

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE ODONTOLOGIA**

**E.A.P. DE ODONTOLOGIA**

**“TABAQUISMO Y CONCENTRACIÓN DEL FACTOR  
DE CRECIMIENTO EPIDERMAL EN SALIVA”**

**TESIS**

**Para optar el título profesional de:**

**Cirujano Dentista**

**AUTOR:**

**Ronel Spencer, Barrios Felices**

**ASESORES**

**Dra. Vilma, Chuquihuaccha Granda**

**Lima – Perú**

**2014**

## **JURADO EVALUADOR DE TESIS**

**PRESIDENTE** : Mg. C.D. Romel Armando, Watanabe Velásquez  
**MIEMBRO** : Mg. C.D. Elmo Sigifredo, Palacios Alva  
**MIEMBRO** : C.D. Vilma Georgina, Chuquihuaccha Granda

## DEDICATORIA

A mi padre Saturnino por su fortaleza, confianza, los buenos valores,  
los buenos consejos y todo su apoyo incondicional para lograr lo que  
siempre me propuse. A quién sé, le hubiera dado mucha alegría verme  
por fin titulado.

El día de hoy puedo decirte papá promesa cumplida.

A mi madre Ana por su ternura, inagotable apoyo, infinitos detalles,  
inacabables consejos casi siempre atinados para al fin conseguir mis metas y  
porque nunca dejaste de creer siempre en mí.

A mi hermano Yuner, por siempre persuadirme para guiarme en  
el buen camino y sus intentos para hacerme mejor

Por todo lo que me sucede  
Gracias.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Vilma Chuquihuaccha Granda, por su inestimable ayuda y colaboración en la elaboración de esta investigación, por su trabajo, generosidad su disponibilidad absoluta con una categoría profesional y personal admirable.

Al Dr. Romel Watanabe Velásquez,, por su colaboración en la revisión de la presente investigación y a la vez agradecer sus sugerencias y observaciones.

Al Dr. Elmo Palacios Alva, por su colaboración en la revisión de la presente investigación y a la vez agradecer sus sugerencias y observaciones.

Al Instituto de Investigación Estomatológica, por el apoyo económico brindado para el desarrollo de la presente Tesis.

A la Dra. Marieta Petkova Gueorguieva, por haberme dado la oportunidad de compartir sus conocimientos y amplia experiencia.

A la Dra. Vilma Béjar Castillo, Directora del Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión" por su colaboración al brindarnos las instalaciones del instituto que dignamente dirige.

A la Dra. Pilar Alva Betalleluz, Jefa del Laboratorio de Inmunología del Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión" por su apoyo incondicional, solidario, compromiso profesional con el desarrollo en la presente investigación y en la ejecución del inmunoensayo aplicado en esta tesis.

Al Mg. Pedro Ballona Chambergó, coordinador del Departamento de Estomatología Médico Quirúrgico de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por brindarnos las instalaciones del Servicio de Diagnóstico.

A los docentes del Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Odontología, por su colaboración durante la etapa de recolección de muestras.

A mi compañera de vida Rut Huamán Salvador, por su paciencia, comprensión y entrega total en la presente investigación.

## **Resumen**

El Factor de Crecimiento Epidermal(FCE) encargado de estimular los procesos de división, migración y diferenciación de las células epiteliales. El tabaquismo principal factor de riesgo asociado a la formación de lesiones cancerígenas en boca, vías respiratorias, pulmón etc. El presente estudio se encargó de determinar la relación entre Tabaquismo y la Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en saliva, para lo cual se recolectó muestras de saliva total no estimulada y se evaluó los niveles de concentración del FCE mediante el inmunoensayo de ELISA de 40 pacientes no fumadores como grupo control y 39 pacientes fumadores como grupo de estudio, estos últimos divididos en subgrupos de fumadores leves(19), fumadores moderados(10) y fumadores severos(10) que acudieron al Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se encontró que a mayor grado de tabaquismo los niveles de concentración de FCE eran más elevados encontrándose una diferencia estadísticamente significativa entre pacientes no fumadores, fumadores leves, fumadores moderados y fumadores severos( $p=0.000$ ). También se encontró que no hay relación del FCE con respecto a la edad, ni al género.

**Palabras Claves:** Factor de Crecimiento Epidermal, tabaquismo, inmunoensayo de ELISA, saliva.

## **Abstract**

Epidermal Growth Factor (EGF) responsible for stimulating the processes of division, migration and differentiation of epithelial cells. The primary smoking risk factor associated with the formation of cancerous lesions in the mouth, respiratory tract, lung etc. This study was commissioned to determine the relationship between Smoking and Concentration Epidermal Growth Factor in saliva, for which samples of whole unstimulated saliva was collected and the concentration levels of EGF was assessed by ELISA immunoassay of 40 patients no smoking as control group and 39 smoking patients as the study group, these last divided into subgroups of light

smokers (19), moderate smokers (10) and heavy smokers (10) who attended the Diagnostic Service of the Faculty of Dentistry Mayor de San Marcos National University. It was found that the greater the degree of smoking concentration levels of EGF were higher, statistically significant difference was found among nonsmokers, light smokers, moderate smokers and heavy smokers patients( $p = 0.000$ ). Also it was found that there is no relationship of EGF with respect to age or gender.

**Keywords:** Epidermal Growth Factor, smoking, ELISA immunoassay, saliva.

## INDICE DE CONTENIDOS

I.	INTRODUCCIÓN .....	12
II.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	13
	2.1 Área Problema .....	13
	2.2 Delimitación del problema .....	14
	2.3 Formulación del problema.....	15
	2.4 Objetivos de la investigación.....	15
	2.4.1 Objetivo general .....	15
	2.4.2 Objetivos específicos .....	15
	2.5 Justificación de la investigación .....	16
	2.6 Limitaciones de la investigación.....	16
III.	MARCO TEORICO .....	17
	3.1 Antecedentes .....	17
	3.2 Bases Teóricas .....	21
	3.2.1. FACTOR DE CRECIMIENTO .....	21
	Referencia Histórica.....	21
	Generalidades.....	22
	3.2.2 FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL .....	29
	3.2.3 EL TABAQUISMO.....	37
	3.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	45
	EGF.- Factor de Crecimiento Epidermal .....	45
	3.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	45
	3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	46
IV.	MATERIAL Y MÉTODOS .....	47

4.1 Tipo de estudio.....	47
4.2 POBLACIÓN Y MUESTRA .....	47
Población .....	47
4.3 Procedimientos y Técnicas .....	49
Procesamiento de datos. ....	57
Análisis de Resultados.....	58
V. RESULTADOS .....	59
VI. DISCUSIÓN.....	73
VII. CONCLUSIONES.....	78
VIII. RECOMENDACIONES .....	79
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	80
X. ANEXOS .....	87



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Distribución de la muestra. ....	48
Tabla 2: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) para No Fumador .....	59
Tabla 3: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) para Fumador Leve .....	60
Tabla 4: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) para Fumador Moderado.....	60
Tabla 5: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) para Fumador Severo .....	61
Tabla 6: Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto al Tabaquismo.....	62
Tabla 7: Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto a la Edad. .....	63
Tabla 8: Tabla de contingencia Grupo etáreo * Tabaquismo .....	64
Tabla 9: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal, (ng/ml) del grupo etáreo de 18-31 años. ....	65
Tabla 10: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) del grupo etáreo de 32-45 años. ....	67
Tabla 11: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) del grupo etáreo de 46-60 años. ....	69
Tabla 12: Tabla de contingencia Hábito de fumar * Género.....	71
Tabla 13: Factor de crecimiento Epidermal con respecto al Género.....	71

## INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Distribución de la muestra en grupos.....	48
Gráfico 2: Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto al Tabaquismo.....	62
Gráfico 3: Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto a la edad .....	63
Gráfico 4: Media del Factor de Crecimiento Epidermal del grupo etáreo de 18-31 años .....	66
Gráfico 5: Media del Factor de Crecimiento Epidermal del grupo etáreo de 32-45 años .....	68
Gráfico 6: Media del Factor de Crecimiento Epidermal del grupo etáreo de 46-60 años .....	70
Gráfico 7: Concentración del Factor de crecimiento Epidermal con respecto al Género .....	72

## INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Cuadros de Consistencia .....	87
Anexo 2: Consentimiento Informado .....	92
Anexo 3: Instrumento de Recolección.....	94
Anexo 4: Fotografías .....	95

## **I. INTRODUCCIÓN**

El tabaquismo es una enfermedad que causa millones de muertes prevenibles en el mundo, mal hábito que ocasiona manifestaciones crónicas en nuestro organismo y manifestaciones orales, que hemos de considerar en nuestra carrera profesional.

La saliva principal fluido que alberga en su composición sustancias que van a beneficiar el equilibrio saludable del sistema estomatognático. Una de estas sustancias que en condiciones normales contribuye con el bienestar de la salud, es el Factor de Crecimiento Epidermal quien tiene como función mantener la integridad de los tejidos, participar en las fases de cicatrización promoviendo la diferenciación, el crecimiento y la proliferación celular. Es en este punto en específico, que el tabaco presente en los cigarrillos va a tener sus principales efectos adversos, ya que al alterar la concentración de este factor en un primer momento va dificultar la cicatrización, y posteriormente si el hábito no es erradicado puede desencadenar procesos de crecimiento descontrolado y desorganizado, situación que ocurre de manera similar en las neoplasias.

Es necesario, por lo expresado anteriormente, valorar a la saliva no solo por la función a nivel de boca, sino porque en su composición puede reflejar lo que ocurre a nivel sistémico. Y con investigaciones futuras sobre el factor de crecimiento Epidermal y su relación con el tabaquismo, se puede considerar como una ayuda diagnóstica a la saliva y por ende al factor de crecimiento epidermal como indicadores de afecciones que puede causar el consumo de tabaco a largo plazo, conociendo como la más mortal al cáncer oral.

En nuestro país no se encuentra muy difundida una cultura de prevención lo que deviene en diagnóstico tardíos de múltiples enfermedades como el cáncer en lo que poco o nada se puede hacer para lograr la rehabilitación del paciente. Es aquí y desde nuestra área, la odontología que es nuestra función educar a nuestros pacientes, informarles acerca de las nuevas técnicas de prevención cómo podría ser esta en el futuro.

## **II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

### **2.1 Área Problema**

Los factores de crecimiento son proteínas que se unen a receptores en las superficies de las células dando lugar fundamentalmente a la activación de la proliferación y /o diferenciación celular. Los factores de crecimiento incluyen PDGF, EFG; TGF, IGF-I FG, NGF, eritropoyetina, interleuquina-2 (IL 2). El Factor de Crecimiento Epidermal (FCE) es un polipéptido de 53 aminoácidos que se forma por la ruptura de una proteína precursora. Se une a receptores de superficie con gran afinidad activando su tirosina quinasa citosólica. FCE tiene efectos sobre las células de origen mesodérmico y ectodérmico particularmente queratinocitos y fibroblastos.<sup>1</sup>

En el organismo humano está presente en diversos fluidos biológicos como plasma, saliva, orina líquido amniótico y leche. Histológicamente los conductos excretores de las glándulas salivales están revestidos de células columnares que sintetizan varias proteínas como: la ribonucleasa, el FCE, la alfa amilasa y varias proteasas.<sup>2</sup>

El estudio de los factores de crecimiento ha ocupado un lugar importante en la oncología experimental en los últimos años. Actualmente surgen cada día en la literatura más datos clínicos, que tratan de avalar la importancia de estas moléculas biorreguladoras en el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de las neoplasias malignas. El incremento del FCE podría ser un indicador de presencia de neoplasias.

La Organización Mundial de la Salud define al tabaquismo como la dependencia a la nicotina del tabaco, la cual produce luego de una ingesta constante diversas enfermedades en el cuerpo humano. El tabaquismo produce diferentes tipos de cáncer; de pulmón, de tráquea y bronquios, de labio y boca, de laringe y faringe, de esófago, páncreas, riñón y órganos urinarios<sup>3</sup> . Los efectos de la nicotina son variados y contradictorios. Esta disminuye la síntesis de prostaglandinas, el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica, la secreción de mucus y el Factor de Crecimiento Epidermal (FCE).<sup>4</sup>

Existe evidencia de que diversos factores sumados a la carga genética incrementan el riesgo de la aparición de cánceres. El impacto en la salud pública radica en que,

una reducción en la frecuencia de los factores modificables en la población general tendría impacto en la reducción de la incidencia y mortalidad por cáncer.

Uno de los principales factores de riesgo para cáncer es el consumo de tabaco, asociado a cáncer de cavidad oral, laringe, pulmón, cérvix, mama y estómago. Danaei y col. encontraron que tanto a nivel mundial como en países de bajos y medianos ingresos como el nuestro, el mayor número de muertes por cáncer es explicado por factores de riesgo como el consumo de tabaco. Aún cuando Encuestas Nacionales de Prevención y Consumo de Drogas (12-64 años) realizadas en población urbana de ciudades de 20 000 y más habitantes por la Comisión Nacional para el Desarrollo y Vida sin Drogas DEVIDA (I, II, III y IV Encuestas) muestran que, en el período 1998-2010, la tendencia de la prevalencia del consumo de tabaco en el último año y de la prevalencia de consumo de vida han sido descendentes alcanzando su valor más bajo el año 2010<sup>5</sup>, estos datos deben ser tomados con escepticismo, por la subjetividad que encierra las respuestas en una encuesta.

Al evaluar a los pacientes que acuden al Servicio de Diagnóstico de la Clínica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, dentro de los antecedentes personales se pregunta por hábitos nocivos tales como alcohol y tabaco. Sin embargo estos datos no son procesados para diagnósticos presuntivos de enfermedades sistémicas, más aún si se conoce al tabaquismo como uno de los hábitos más comunes en la población peruana, en todos sus niveles y como uno de los factores de riesgo en cáncer oral. Área de nuestra especialidad.

## **2.2 Delimitación del problema**

Esta investigación recopiló, y analizó muestras de saliva de pacientes fumadores que acudieron al servicio de diagnóstico de la Facultad de Odontología de la UNMSM de setiembre a noviembre del 2013.

El grupo social objeto de estudio fueron los pacientes fumadores, los cuales fueron agrupados según el número de cigarrillos que fuman diariamente.

Se asume el nivel de fumadores de tabaco, según la OMS (2006) en leves, moderados y severos en la siguiente escala:

Fumador leve: Fuma desde 1 a 5 cigarrillos diarios.

Fumador moderado: Fuma un promedio de 6 a 15 cigarrillos diarios.

Fumador severo: Fuma de 16 a más cigarrillos por día en promedio.

### **2.3 Formulación del problema**

¿Cuál es la relación entre el tabaquismo y la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal, en saliva de los pacientes fumadores que acuden al Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de setiembre a noviembre del 2013?

### **2.4 Objetivos de la investigación**

#### **2.4.1 Objetivo general**

Determinar la relación entre el Tabaquismo y la Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en saliva de pacientes fumadores que acuden al Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de setiembre a noviembre del 2013

#### **2.4.2 Objetivos específicos**

Determinar los valores del Factor de Crecimiento Epidermal en Saliva de No Fumadores.

Determinar los valores del Factor de Crecimiento Epidermal en Saliva de Fumadores Leves de Tabaco.

Determinar los valores del Factor de Crecimiento Epidermal en Saliva de Fumadores Moderados de Tabaco.

Determinar los valores del Factor de Crecimiento Epidermal en Saliva de Fumadores Severos de Tabaco

Comparar las concentraciones del Factor de Crecimiento Epidermal en los cuatro grupos.

## **2.5 Justificación de la investigación**

La importancia de esta investigación radica en conocer y demostrar si existe alteración en la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en saliva de fumadores de tabaco; enmarcada dentro de nuestra realidad nacional ya que no existen estudios previos en el país. Por la necesidad de conocer y saber más a fondo un tema que aún nos es muy ajeno. De esta manera elaborar propuestas:

Que ayuden a concientizar a la población sobre el daño que ocasiona el mal hábito de fumar.

Que ayuden a elaborar propuestas para un posible diagnóstico temprano del cáncer.

El presente trabajo de investigación se justifica ante el elevado porcentaje de fumadores y más aún a la temprana edad en la que este hábito se presenta y acentúa con el pasar de los años; la cual pues está contribuyendo a que cada vez se presente un mayor número de casos de cáncer oral.

## **2.6 Limitaciones de la investigación**

Existen muy pocas investigaciones que ayuden a desarrollar esta investigación.

El uso de equipo sofisticado y alto costo de los insumos.

La falta de registro sanitario para importar insumos que permitan cuantificar la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en saliva.



### **III. MARCO TEORICO**

#### **3.1 Antecedentes**

Mandel, y cols. En 1987, encontraron niveles menores de FCE en STH(Saliva Total no Estimulada) de fumadores crónicos en personas que consumían más de 15 cigarrillos diarios. Ellos encontraron menor concentración de FCE en fumadores (11,4 ng/mL) que en no fumadores (14,8 ng/mL) en STH, Se tomaron como fumadores positivos los pacientes que consumieron mínimo 6 cigarrillos diarios según parámetros de tabaquismo de la OMS.<sup>6</sup>

Thesleff y cols en 1988, midieron la concentración de FCE en STH en saliva de glándula parótida y combinada de las glándulas sublingual y submandibular. Encontraron que la concentración normal de FCE en STH era de 0.864 ng/mL, en saliva de glándula parótida 2.704 ng/mL y en saliva de glándulas sublingual y submandibular 0.357 ng/mL. No encontraron diferencia por género en ninguno de los grupos.<sup>7</sup>

McGurk, M. y cols. En 1990, analizaron los niveles de FCE en STH y STHe(Saliva Total no Estimulada) de voluntarios sanos y concluyeron que están relacionados con el flujo salival, pero con un coeficiente de correlación bajo ( $r = 0,47$ ). Encontraron ambas formas del FCE (de alto y bajo peso molecular) predominando el de bajo peso. Tras la estimulación durante tres minutos, el FCE de alto peso molecular se incrementa de 18 a 38%. Ellos consideraron que los ritmos circadianos tienen influencia principalmente en la STH.<sup>8</sup>

Manccini y cols. En 1990, no encontraron diferencias significativas en los niveles de FCE en STH entre fumadores y no fumadores al estudiar saliva y jugo gástrico de pacientes con enfermedad péptica. Ellos encontraron en la muestra que la concentración de FCE fue menor en STHe que en STH y una concentración levemente mayor entre no fumadores al compararla con fumadores.<sup>9</sup>

Motoko, I. y cols., en 1993, midieron los niveles de FCE en saliva, orina y suero por radioinmunoensayo y expresión inmunohistoquímica de FCE en glándulas salivales normales para conocer las diferencias en el número de células secretoras de EGF en

glándula submandibular, parótida, sublingual y glándulas menores. Entre otros datos encontraron que la concentración de FCE variaba dependiendo de la edad: de 0 a 9 años  $3.00 \pm 0.32$  ng/ml y en personas mayores de 10 años era de  $4.7 \pm 3.5$  ng/ml. Los niveles de FCE fueron de  $5.7 \pm 4.03$  ng/ml en hombres ( $n = 24$ ) y  $4.36 \pm 3.00$  en mujeres ( $n = 46$ ) pero sin diferencia significativa en ambos grupos, ellos concluyeron que el aumento de FCE con la edad es ligado al desarrollo de las glándulas salivales y se detiene al alcanzar la madurez. Los niveles de FCE mostraron ritmos circadianos relacionados con las comidas, y fueron más altos durante el ayuno, en las mañanas, disminuían durante las comidas y se recuperaban conforme aumentaba el tiempo de ayuno. Las proporciones relativas de FCE en saliva de glándula submandibular, parótida y STH fueron 1:6:4.<sup>10</sup>

Tunio y cols. En 1995, midieron la cantidad de FCE en saliva y jugo gástrico en condiciones basales y después de la estimulación con histamina en 60 pacientes, 20 voluntarios sanos, 20 pacientes con úlcera duodenal y 20 con dispepsia sin úlceras. No encontraron diferencias significativas entre los tres grupos, tampoco encontraron diferencias en la concentración de FCE por género, o en fumadores y no fumadores. Los valores en saliva de FCE fueron 3,62, 4,59 y 2,68 ng/mL para pacientes normales, con úlcera y dispepsia respectivamente. Encontraron un aumento en la concentración en los tres grupos tras la estimulación con histamina pero concluyeron que se debía más a un efecto de sialo-concentración que a una mayor secreción de FCE.<sup>11</sup>

Konturek, J. y cols. 1998, encontraron niveles de FCE salivales significativamente menores en fumadores que en no fumadores, afirmaron que el tabaquismo causa una marcada reducción en la producción basal del FCE salivales y duodenales. El factor de crecimiento epidérmico (FCE) está presente en grandes concentraciones en la saliva y el contenido duodenal pero los mecanismos de su liberación han sido poco estudiados. Este estudio realizado en cuatro grupos de sujetos sanos fue diseñado para determinar la distribución y la liberación de inmunorreactivas FCE (IR-FCE) en las secreciones de saliva, estómago, duodeno y páncreas. En condiciones basales, la concentración de IR-FCE en las secreciones salivares, estómago, duodeno y

páncreas fueron: 2,7 (0,4), 0,42 (0,12), 21 (5) y 8,5 (1,2) ng / ml, respectivamente. La masticación de Parafilm, aumentó significativamente la producción FCE salivales, pero no gástrica o duodenal, mientras que atropinización condujo a la reducción de la producción basal de FCE salival y duodenal, sin afectar el incremento en la liberación de FCE inducida por la masticación. La infusión de pentagastrina aumento la producción de FCE salivales y duodenales y esto fue bloqueado por la adición de la somatostatina. La inyección de secretina condujo a un aumento de la producción pancreática de FCE. Además concluyeron que en el hombre las principales fuentes de FCE son glándulas salivales, el duodeno y el páncreas y que la liberación de FCE se mantiene bajo control neurohormonal.<sup>12</sup>

Ma, L. y cols. 2000. Encontraron que los fumadores tienen un menor nivel del factor salival crecimiento epidérmico (FCE) que los no fumadores. Se investigó si la reducción del FCE está implicada en el retraso de la cicatrización de la úlcera gástrica por el tabaquismo. Las ratas con úlceras inducidas por ácido acético-fueron expuestos al humo del cigarrillo (0, 2 o 4% vol / vol) un día después de la inducción de úlceras. El nivel del factor de crecimiento epidermal fue elevado un día después de la inducción de la úlcera en las glándulas salivales y el suero, y 4 días después de la inducción de la úlcera en la mucosa gástrica. Sin embargo, el humo del cigarrillo deprimía estos efectos beneficiosos y la expresión del ARNm del Factor de Crecimiento Epidermal en las glándulas salivales y la mucosa gástrica. El humo del cigarrillo retrasa la curación de úlceras gástricas y reduce la proliferación celular, la angiogénesis y la síntesis de moco. Presencia exógena de FCE (10 y 20 microg / kg iv) antes de la exposición al humo invierte los efectos adversos del humo del cigarrillo, mientras que a nivel vascular el factor de crecimiento endotelial y la actividad del óxido nítrico sintasa no se vieron afectados. Se concluye que los efectos perjudiciales del humo del cigarrillo en la cicatrización de la úlcera es una consecuencia de la reducción de la angiogénesis, proliferación celular y la secreción de moco por la acción depresiva sobre la biosíntesis de FCE y su expresión de ARNm en las glándulas salivales y la mucosa gástrica.<sup>13</sup>

Gutiérrez Nova P, Olivares Navarrete R, Leyva Huerta ER. (4) En el 2008. Hicieron una asociación entre el tabaquismo crónico, el pH, las proteínas totales (PT) y el FCE en saliva de fumadores. Encontraron que la concentración de FCE fue menor en STHe que en STH y una concentración levemente mayor entre no fumadores al compararla con fumadores. Se seleccionaron pacientes masculinos, entre 20 y 60 años, de la clínica de Registro del Postgrado de Odontología de la UNAM. Se tomaron muestras de saliva total estimulada (STHe) y no estimulada (STH) a un grupo de fumadores y no fumadores. Se midió el pH, se cuantificaron las PT por el método de Bradford y para el FCE la técnica de ELISA (ELISA Kit KHG0061 biosource). Los resultados fueron: el pH se encontró ligeramente alcalino en STHe en ambos grupos, la cantidad de PT fue de  $1,11 \pm 0,71$  en no fumadores y  $0,87 \pm 0,31$  mg/mL en STH de fumadores. En STHe también existió una disminución en la cantidad de PT de  $0,94 \pm 0,47$  en no fumadores y  $0,66 \pm 0,21$  mg/mL en fumadores. El FCE fue en STH de no fumadores  $14,8 \pm 5,62$  comparado con los fumadores con un promedio de  $11,4 \pm 5,45$ . En STHe, el promedio del mismo factor fue en los no fumadores de  $7,8 \pm 5,60$  y en los fumadores a  $9,1 \pm 6,53$  ng/mL. Con una confiabilidad del 90%.<sup>14</sup>

## **3.2 Bases Teóricas**

### **3.2.1. FACTOR DE CRECIMIENTO**

#### **Referencia Histórica**

En 1952 Rita Levi Montalcini, mientras estudia la acción del sarcoma 180 del ratón injertado en el embrión de pollo, descubre un factor tumoral que estimula la innervación de todo el embrión en regiones normalmente no innervadas. El injerto tumoral produce el crecimiento de fibras nerviosas, provenientes de los ganglios simpáticos y parasimpáticos, que invaden el lumen de los vasos y todos los órganos del embrión o del tumor.

Con la colaboración del químico Stanley Cohen empiezan a purificar el extracto tumoral utilizando las enzimas del veneno de serpiente. La sorpresa fue entonces mayúscula, por que el veneno resulto ser una nueva fuente de factor, que estimulaba el tumor, el crecimiento neurítico de las neuronas ganglionares.

Cohen decide investigar si otra glándula como la submandibular, de la rata macho, que libera toxina al morder a la víctima, puede ser fuente de este factor. A sí nació a partir de esta glándula, el NGF o Factor de Crecimiento Nervioso, padre de todos los factores de crecimiento sucesivos.

Posteriormente se empezó a aislar otra sustancia a partir del extracto de las glándulas submaxilares murinas, con la capacidad de estimular de forma prematura el brote de los incisivos y la apertura de los párpados en los ratones recién nacidos tratados de forma sistémica con esta sustancia. La denominación inicial fue "factor párpado-diente". Más adelante se observó que esta sustancia tenía la capacidad de acelerar la reparación tisular, especialmente la cutánea, en virtud de sus propiedades mitogénicas. Por sus propiedades se le llamó Factor de Crecimiento Epidermal.(FCE) aislado por los mismos descubridores del NGF.<sup>15</sup>

## **Generalidades**

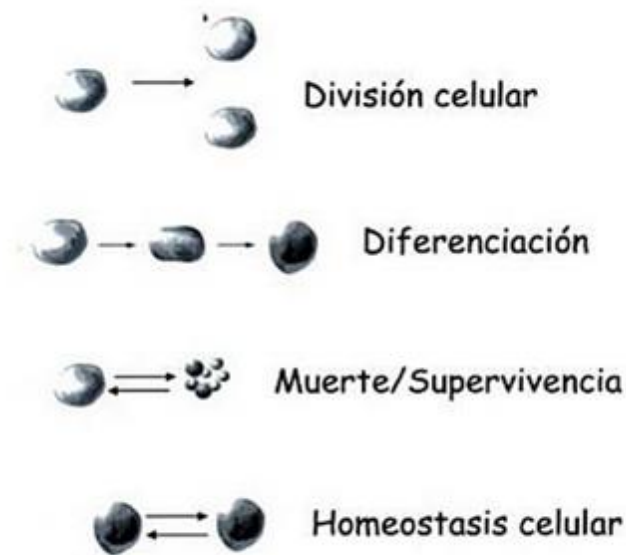
Son proteínas que se unen a receptores en las superficies de las células dando lugar fundamentalmente a la activación de la proliferación y/o diferenciación celular. Células de mamífero cultivadas en un medio que contiene todos los elementos nutritivos sólo crecen si se agrega suero al medio. La falta de suero detiene el crecimiento. Los elementos que provee el suero detiene el crecimiento. Los elementos que provee el suero son ciertas proteínas muy específicas llamadas Factores de Crecimiento, la mayoría de las cuales se requieren a muy bajas concentraciones ( $10^{-9}$  a  $10^{-10}$ M).

Los factores de crecimiento pueden dividirse en clases amplias y limitadas. Las clases de factores amplios, como PDGF y FCE, afectan a muchos tipos de células (fibroblastos, musculo liso, neuroglia), mientras que los factores limitados son específicos de un tipo de célula como la eritropoyetina que actúa solo sobre los precursores de glóbulos rojos. Para cada tipo de factor de crecimiento hay un receptor o grupo de receptores.

Aunque algunos de los factores de crecimiento están presentes en la circulación general, la mayoría se originan de células en la vecindad de células afectadas y actúan como mediadores locales. Aparte de estimular la división celular, hay factores de crecimiento, como la familia del factor transformador de crecimiento Beta, que actúan estimulando unas células e inhibiendo otras. Además de regular el crecimiento y la división celular pueden regular la proliferación sobrevivida, diferenciación, migración, etc.

Entre los más estudiados se encuentran: PDGF, FCE, TGF, IGF-I, FGF, NGF, Eritropoyetina, Interleuquina -2 (IL-2).<sup>16</sup>

Fig N°1. Todas las facetas de la vida de la célula estan mediadas por Factores de Crecimiento



Fuente: Endocrinología. Universidad de Santiago de Compostela. Victo M. Arce.

Los factores de crecimiento pueden ser producidos por cualquier tipo celular (incluidos neuronas y otras células muy especializadas) y tienen una acción autocrina, paracrina o yuxtacrina (es decir circunscrita al entorno); de la misma manera pueden ser producidas por glándulas endocrinas y actuar a distancia.<sup>17</sup>

Los factores de crecimiento regulan el crecimiento de la célula de una forma muy diversa; así un factor puede facilitar la unión de otro factor diferente a su receptor, puede modificar el número de receptores para sí mismo o para otros factores, incluso puede modificar la síntesis y secreción de otro factor de crecimiento diferente. Esto quiere decir que el efecto global de un factor de crecimiento sobre la proliferación celular no depende únicamente de su acción directa sobre las proteínas intracelulares que regulan el crecimiento y la proliferación de la célula, sino también de las interacciones que existen entre factores de crecimiento diferentes.

La división celular se ve afectada por los factores de crecimiento. Se dice que las células se encuentran en fase G0 en ausencia de estos factores y son necesarios para el avance del ciclo mitótico. Las células precisan de recibir estos estímulos para sobrevivir, proliferar y dividirse, de tal forma que cuando son privadas de estos

estímulos se detienen en la fase G<sub>0</sub> debido a que se inactiva la producción de muchas proteínas necesarias para el avance del ciclo. En un momento determinado de la fase G<sub>1</sub> de mitosis es preciso que las células dispongan de una cantidad adicional de factores que les permitan continuar ese avance.

Cuando se produce el daño en el ADN, la fase del ciclo se detiene en fase G<sub>1</sub>, al efecto de poder reparar el daño celular y continuar con el ciclo, o bien programar su propio suicidio apoptótico cuando el daño es irreparable. Los factores de crecimiento regulan la progresión del ciclo, entre otros mecanismos, modificando la fisiología de diversas proteínas intracelulares que facilitan el avance o la detención del mismo.<sup>18</sup>

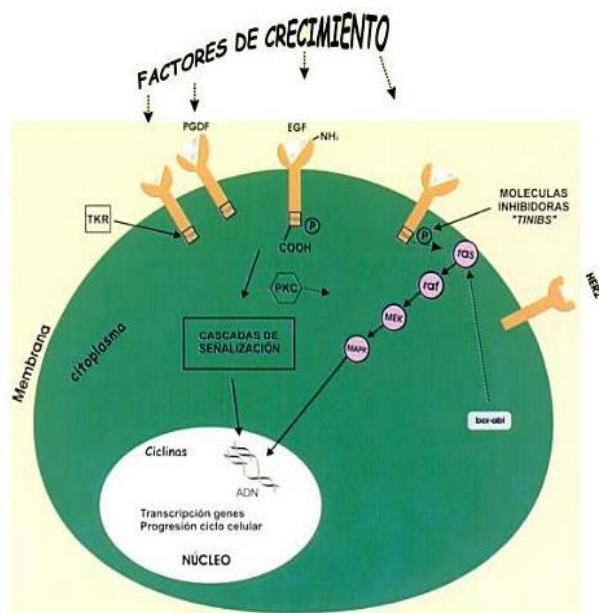
### **Mecanismo de acción**

Los factores de crecimiento actúan a través de la vía de transducción de señales (vía del segundo mensajero), y son considerados como los primeros mensajeros. En este proceso el ligando se une a un receptor de superficie de membrana específico que se encarga de transmitir la señal al interior celular y provocar reacciones en cadena moleculares intracelulares que se les atribuye, por su función, el papel de segundos mensajeros. Estas señales se transmiten a través de una escalera de moléculas que son activadas-desactivadas en forma secuencial para provocar una respuesta celular que nos llevará a la regulación de su crecimiento, su división, la apoptosis, respuesta a los estímulos del estrés y la reparación celular.

Cuando los factores de crecimiento, factor de crecimiento epidermal(FCE), factor de crecimiento derivado de plaquetas(PDGF) interaccionan con sus receptores de tirosincinasa, se fosforila la región citoplasmática que posee actividad tirosincinasa y esta autofosforilación activa la capacidad del receptor para fosforilar otras proteínas citosolicas y transmitir las señal. Esta señal activa la proteína ras(codificada por el proto oncogen ras), a la cinasa raf y a una secuencia de cinasas de serina/treonina, cada una de las cuales fosforila a la siguiente hasta la última MAP, que fosforila factores de transcripción en el núcleo donde se producen las diferentes respuestas celulares.<sup>19</sup>



Fig. N°2: Cascada de señalización mediada por los Factores de Crecimiento.



Fuente: Rabiña Ruvira, Enrique. 2008. Medicamentos un viaje a lo largo de la evolución histórica del descubrimiento de fármacos. Vol. II

Los receptores de los factores de crecimiento comparten la capacidad de fosforilar proteínas en los residuos de tirosina y de ese modo activan la cascada de señales. Estas moléculas que reciben el nombre de receptores de proteínas tirosina kinasas son proteínas de transmembrana con un dominio extracelular, otro corto intra membranoso y finalmente la porción intracelular que posee el dominio catalítico tirosina kinasa.<sup>20</sup>

Al unirse el factor de crecimiento al receptor, se produce una alteración conformacional del dominio extracelular del receptor, lo que trae consigo la reunión (dimerización) de los receptores de tirosina kinasa (TK). La dimerización del receptor junta los dominios catalíticos de dos receptores adyacentes con el resultado que ambos se fosforilan (transfosforilación), lo que trae como consecuencia la propagación del estímulo.

## **Tipos de Factores de crecimiento**

Factor de Crecimiento derivado de Plaquetas (PDGF).- Uno de los primeros factores identificados. Su surgimiento nació de la observación de fibroblastos cultivados, estos proliferaban en presencia de suero pero no de plasma. La proliferación de los fibroblastos puede producirse agregando extractos de plaquetas. La liberación del PDGF liberado del coágulo de la sangre posiblemente juega un papel muy esencial en estimular la división celular durante la cura de heridas. El factor de crecimiento derivado de plaquetas está compuesto por dos cadenas polipeptídicas distintas, A y B, que forman homodímeros o heterodímeros. Sólo las formas diméricas interaccionan con el receptor PDG.

Factor de Crecimiento de Fibroblastos (FGF).- Esta familia de factores de crecimiento de fibroblastos está constituida por numerosos miembros. Son polipéptidos que regulan la proliferación y diferenciación de distintos tipos de células y tienen importancia en el desarrollo del esqueleto y el sistema nervioso. Los FGFs interactúan con receptores de superficie de los cuales se han identificado cuatro tipos distintos (FGFR1 A FGFR4). Los receptores están ampliamente expresados en el desarrollo óseo y varias alteraciones autosomales dominantes del crecimiento de huesos resultan de mutaciones en los genes de FGFR. La más prevalente es la acondroplasia causada por un defecto genético de FGFR3, un receptor necesario para el control del crecimiento de condrocitos en los cartílagos de crecimiento de los huesos. Otros trastornos del crecimiento de los huesos identificados como craniosinostosis resultan de mutaciones en FGFR1, FGFR2 y FGFR3 que dan lugar a los síndromes de Pfeiffer, Crouzon y Apert.

Factor de Crecimiento Insulínico (IGF).- El factor de crecimiento Insulina similar en su forma IGF-1, originalmente llamado somatomedina C, es un factor de crecimiento relacionado a la insulina producido en respuesta a la hormona de crecimiento. Tiene acciones autocrinas y paracrinas además de acciones endocrinas. Induce actividades celulares, en particular sobre el crecimiento de los huesos. Puede unirse al receptor de la insulina pero con mucha menor afinidad. La forma IGF -II se expresa

casi exclusivamente en tejidos embrionarios y neonatales por lo que se considera un factor de crecimiento fetal.

Factor Transformador de Crecimiento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) Comprende cuatro proteínas estrechamente relacionadas (TGF $\beta$ 1- TGF $\beta$ 5). Estas proteínas son secretadas como precursores inactivos que por procesos proteolíticos dan lugar a la formación de elementos maduros. Entre sus misión está la de proliferar a muchas células mesenquimales, pero es un potente inhibidor de la mayoría de las células epiteliales incluyendo los queratinocitos, y las células hematopoyéticas. Su misión estimuladora es dosis dependiente y estaría mediada indirectamente por factores de crecimiento mitogénicos autocrinos como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF).

TGF Tiene efectos proliferativos en células mesenquimales y epiteliales. En ciertas condiciones tiene efectos antiproliferativos disminuyendo la secreción de inmunoglobulinas y suprimiendo la hematopoyesis, miogénesis, adipogénesis y esteroidogénesis adrenal.<sup>21</sup>

### **Los Factores de crecimiento y la cicatrización**

Desde el conocimiento de los factores de crecimiento, no se ha dejado de estudiar acerca de su actuación en los procesos de cicatrización.

El proceso de cicatrización comprende tres fases traslapadas en el tiempo: inflamación, proliferación y remodelamiento, donde la interacción dinámica de mediadores solubles, células sanguíneas, matriz extracelular y células del tejido afectado juegan un papel primordial.

#### **Fase de inflamación**

Se inicia al ocurrir el daño tisular y puede durar entre 3 a 6 días, en esta etapa se dan los procesos de hemostasia y la fagocitosis de los irritantes presentes: microorganismos, detritus y restos de tejido necrosado. La extravasación sanguínea causada por la disrupción de los vasos sanguíneos, activa la cascada de coagulación y la agregación plaquetaria, generando la organización de un coágulo de fibrina, a

partir de fibrinógeno, el cual sirve como selle físico de la herida y un soporte transitorio sobre el que migran y se establecen las células que intervienen durante el proceso de reparación (células inflamatorias, células endoteliales y fibroblastos). La composición de este varía durante el proceso, pudiéndose también encontrar fibronectina, plaquetas, trombina, colágeno y glicosaminoglicanos; además, es un importante reservorio de factores de crecimiento (TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , VEGF, EGF y PDGF) y citoquinas (IL-1 e IL-6), que generan señales quimiotácticas para neutrófilos, monocitos, fibroblastos y células endoteliales.<sup>22</sup>

### **Fase proliferativa**

Esta etapa se inicia al tercer día y se caracteriza por la organización de un tejido de granulación muy bien irrigado, rico en fibroblastos encargados de depositar colágeno y proteínas de la matriz extracelular, que va a servir como soporte transitorio para que se de la reepitelización sobre la superficie de la herida. El tejido de granulación formado reemplaza el coágulo de fibrina y se va remodelando por la acción de proteasas y aposición de colágeno nuevo tipo I y tipo III. Los procesos de neoformación de vasos sanguíneos, reclutamiento de células endoteliales y macrófagos, y la migración de los fibroblastos se dan por la expresión de factores solubles como FGF, TGF Beta, VEGF, angiopoyetina 1 y angiogenina. Dentro de las 24 a 48 horas, queratinocitos basales (células epiteliales) expresan integrinas que les permiten migrar por los bordes de la herida, debajo del coágulo de fibrina, para formar una fina cubierta sobre la herida dérmica, para ello, las células epiteliales modifican su morfología para ser migratorias, se elongan y se aplanan, y pierden los desmosomas en las uniones celulares. Este proceso es mediado por factores quimiotácticos como el factor de crecimiento fibroblástico siete (FGF-7), el factor de crecimiento epidermal (EGF) y el factor de crecimiento transformante alfa (TGF-  $\alpha$ ).<sup>23</sup>

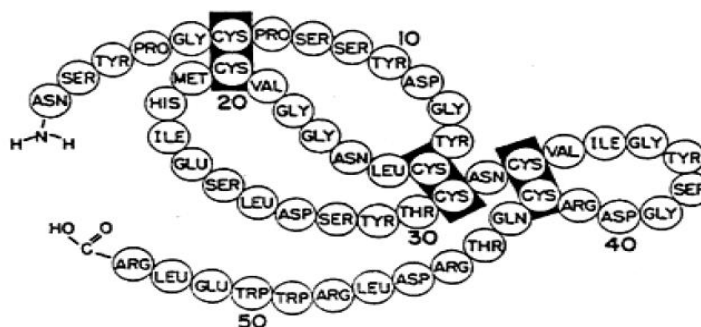
### **Fase de remodelación**

Es la fase final de la cicatrización, entre el día 5 hasta el día 14, caracterizada por la disolución gradual del tejido de granulación, siendo reemplazado por tejido conectivo rico en colágeno tipo I, ácido hialurónico, condroitin sulfato y dermatansulfato. Los

### 3.2.2 FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL

El FCE es un polipéptido de 53 aminoácidos que deriva del procesamiento proteolítico de un precursor transmembrana denominado prepro-EGF de 1207 aminoácidos en la especie humana.<sup>25</sup>

Fig. N°3. Secuencia de Aminoácidos de Factor de Crecimiento Epidermal.



El FCE se sintetiza en las glándulas submaxilares, en la membrana apical de las células límbicas renales, en las glándulas exocrinas gastrointestinales y en los acinos serosos de la cavidad nasal, es en las glándulas submaxilares donde estimula la

erupción dentaria, el descubrimiento de la función del EGF se produjo hace varias décadas cuando observaron que su inyección en roedores aceleraba el proceso.<sup>26</sup>

El FCE es esencial para el desarrollo del embrión, estando relacionado con la génesis de varios órganos derivados del ectodermo y el mesodermo, como el cerebro, el corazón y el pulmón. Tiene gran capacidad para estimular los procesos de división, migración y diferenciación de las células epiteliales tanto en tejidos de revestimiento como glandulares.<sup>27</sup>

La glándula parótida es la principal fuente de FCE en saliva del hombre, y Thesleff indica que no hay diferencia de sexo en cuanto a FCE en ninguna de las glándulas salivares mayores (parótida, submandibular, sublingual<sup>28</sup>. La proporción relativa de FCE en glándula parótida, submandibular y glándulas restantes es de 6:4:1.<sup>29</sup>

Al realizar un estudio en ovinos, Onaga et al(2006) demostraron que el FCE y TGF- $\alpha$  (Factor de Crecimiento Transformante Alfa) están localizados en el epitelio ductal de la glándula parótida y submandibular y que la secreción de FCE aumenta durante la ingesta de alimentos.

Al estudiar las concentraciones fisiológicas del Factor de Crecimiento Epidermal en fluidos biológicos<sup>30</sup>, Joh et al.(1986) verifican que sus ,mayores concentraciones se dan encima de los 9 años de edad, lo que sugiere que promueve la proliferación celular durante , crecimiento o desenvolvimiento humano<sup>31</sup>. Ino et al.(1993) también verifican menores concentraciones por debajo de esa edad y que no hay diferencias de concentraciones en relación al género.

El FCE está presente en el plasma a muy bajas concentraciones y generalmente asociado a las plaquetas y a otros elementos de la coagulación sanguínea. En humanos se han encontrado altos niveles de FCE en fluídos prostáticos, seminales y en el fluído cerebrospinal, así como en un amplio rango de células epiteliales tales como las de pulmón, estómago, riñones, duodeno, páncreas, piel, mama, glándulas

salivales, tiroides, ovario, útero y placenta. Se plantea además que el hígado puede ser una fuente de FCE circulante.

La tasa de biosíntesis y de liberación en muchos tejidos depende del inhibigogo universal denominado somatostatina (hormona inhibidora de la liberación del factor de crecimiento), lo cual hace que sea un potencial agente terapéutico en cánceres en los que hay expresión exagerada del sistema del factor de crecimiento epidérmico.<sup>32</sup>

### **Expresión y regulación del FCE**

El receptor de FCE pertenece a una familia de receptores con actividad tirosina cinasa que traducen la información de los factores de crecimiento extracelulares a las vías de señalización intracelulares. Estas señales a su vez modulan diversas funciones biológicas, tales como la proliferación celular, la migración, la diferenciación y la apoptosis (Holbro y Hynes 2004).

El receptor del factor de crecimiento epidérmico está constituido por tres segmentos o dominios:

Un dominio extracelular, formado por 632 aminoácidos.

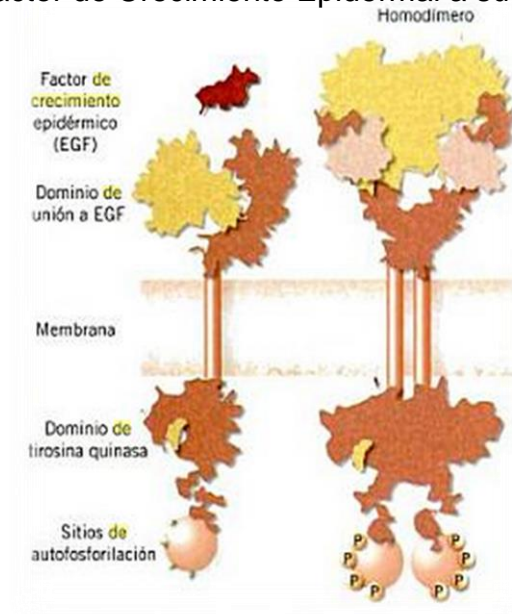
Un dominio transmembrana, compuesto por 22 aminoácidos que anclan al receptor a la membrana.

Un dominio intracelular que contiene 580 aminoácidos y posee una porción con actividad enzimática capaz de introducir grupos fosfatos en otras proteínas y 4 sitios en que puede también ser fosforilada: una treonina y tres tirosinas.

Como la mayoría de los receptores tirosincinasas, el receptor de FCE se presenta principalmente en forma de monómero en ausencia de ligando. Sin embargo, la unión con un ligando da lugar a la dimerización del receptor. Esto es crucial en el mecanismo por el cual el receptor media la actividad biológica de FCE. La unión del

ligando provoca la dimerización del receptor activándose, lo que conlleva una serie de reacciones aumentando el calcio intracitosólico y finalmente la síntesis de ADN.<sup>33</sup>

Fig. N°4. Unión del Factor de Crecimiento Epidérmico a su receptor y dimerización.



Fuente: Tratado de Nutrición. 2010

La respuesta al FCE puede ser mitogénica y no mitogénica.<sup>34</sup>

Mitogénica: Proliferación de los queratinocitos y de los fibroblastos.

No mitogénica:

a) Por su vía metabólica provoca la activación de la enzima fosfatidilinositol-3-quinasa, lo que provoca un aumento de pH citosólico activando el sistema enzimático anti-stress (SAPK: stress-activated-protein-kinasa).

b) Incremento de la actividad de la enzima superóxido de dismutasa, enzima que actúa sobre el anión superóxido bloqueando al radical oxígeno, por lo tanto disminuyendo la oxidación celular.

c) Interactúa con el óxido nítrico actuando sobre el tono de la vasculatura lisa.

d) Activa la síntesis de colágeno, matriz intercelular, formación de ácido hialurónico. (Referencia importante en el proceso de cicatrización).

### El Receptor del FCE y el cáncer

Los factores de crecimiento también juegan un papel crucial sobre el ciclo celular, algunos de ellos forman parte de los factores competentes, que conducen a las



células de la fase G0 a la fase más temprana de G1. El FCE en particular, constituye un factor de progresión del ciclo celular, ya que es el encargado de estimular los eventos moleculares necesarios para que ocurra la transición a través del punto de restricción (punto R) situado en la fase G1. Una vez superado este punto, las células pueden progresar hacia la fase G2, y desde aquí continuar hacia las siguientes fases del ciclo aun en ausencia de factores de crecimiento. Por esa razón, la presencia de estímulos excesivos, provoca una progresión continua del ciclo y la consiguiente división celular, conduciendo a una proliferación descontrolada de las células. Así ocurre en las células tumorales, las cuales además llegan a hacerse independientes de estos estímulos a través de la expresión incrementada de moléculas receptoras de señales, como el receptor del FCE (Lui y Grandis2002).<sup>35</sup>

La sobre-activación y/o sobreexpresión del receptor del FCE puede inducir la alteración de diversas funciones biológicas, tales como la proliferación celular, la migración, la diferenciación y la apoptosis, que conducen finalmente a la transformación de una célula normal en maligna.

El sistema del FCE/Receptor del FCE constituye un blanco muy atractivo para el desarrollo de nuevas terapias dirigidas al tratamiento del cáncer (Arteaga 2003).<sup>36</sup>

### **Actuación del FCE en los distintos órganos y sistemas**

El FCE se relaciona con la formación de importantes estructuras durante el período embrionario; así sabemos que es necesario para la formación glandular en la piel del feto. Es un mitógeno para una gran diversidad de tejidos de origen ectodérmico y mesodérmico. El factor es un mitógeno para células tanto ectodérmicas como mesodérmicas: queratinocitos, células musculares lisas de los vasos sanguíneos, condrocitos, hepatocitos, células foliculares del tiroides, células de la granulosa, diferentes estirpes del tejido mamario, glándulas lacrimales, glándulas de Brunner, megacariocitos, entre otras, así como en la mayoría de los fluidos biológicos (plasma, saliva y orina). En animales de experimentación, como rata y conejo, estimula la maduración fetal del pulmón, hepática, pancreática, tracto gastrointestinal, promueve el crecimiento de la glándula del tiroides y de las glándulas suprarrenales, facilita la

liberación de GH, PRL y ACTH de la hipófisis, inhibe la secreción ácida del estómago y estimula la secreción del lactógeno placentario, entre otras acciones claramente definidas.

Juega un papel importante en la regulación y la diferenciación celular, por lo que puede emplearse como un estimulador del crecimiento y diferenciación celular. Sus receptores se encuentran en las membranas de todas las células, excepto en las del sistema Hematopoyético. En la epidermis existe una relación inversa entre el número de receptores para el FCE y el grado de diferenciación y/o queratinización epidérmica. Así, la capa basal posee mayor número de receptores y la capa córnea el menor.

Sus efectos biológicos in vitro están en relación con el incremento de la proliferación de queratinocitos del epitelio corneal, del epitelio de glándula mamaria, de células endoteliales y de fibroblastos (aumentando la síntesis proteica y de glucosaminoglicanos).

Con relación a su efecto biológico in vivo, en la epidermis estimula la hiperplasia e hipertrofia, lo cual lleva a un crecimiento en el número de células mitóticas, incrementando en contenido de ADN y ARN y también la actividad de las enzimas epidérmicas.

#### **Acciones sobre los distintos órganos:**

**OJO:** Se ha encontrado ARN-m para el FCE en la secreción lagrimal (Estudios con el S. de Sjögren)<sup>37</sup>. Se están haciendo varios estudios clínicos sobre el tratamiento cicatrizante de úlceras oculares y queratitis corneales con factores de crecimiento autólogos en donde se observa que la calidad de cicatrización es mejor y el tiempo de úlcera disminuye.

**MAMA:** Aparece en la secreción del calostro materno en dosis de 50-150 ng/ml, indispensable para el desarrollo y maduración y adaptación funcional del tubo digestivo neonatal (36). La progesterona estimula al FCE.<sup>38</sup>

**TRACTO-GASTROINTESTINAL:** Las glándulas salivares son el órgano que mayor proporción de factor expresan, junto con el riñón. También hay expresión en las glándulas de Brunner duodenales, demostrándose esencial para la conservación del mucus parietal gástrico, siendo su función la de asistir de forma inmediata ante la pérdida de la integridad epitelial. La presencia del FCE parece ser importante para la citoprotección; hay fármacos antiulcerosos que aumentan el FCE.<sup>39</sup> La molécula ha sido estudiada como tratamiento de la colitis ulcerosa en forma de enemas observándose que reducía la actividad de la enfermedad e inducía la remisión clínica.

**HÍGADO:** Efecto mitótico al recibir FCE de las glándulas de Brunner duodenales a través de la circulación portal.

**RIÑÓN:** El riñón, después de las glándulas salivares, es el segundo órgano que expresa mayor cantidad de FCE. En mamíferos se ha detectado una gran cantidad de receptores en el túbulo colector, y en menor cantidad en los túbulos distales y en el glomérulo. El factor es un potente mitógeno para el túbulo proximal, zona más dañada en la necrosis tubular aguda.<sup>40</sup> En rata, la administración farmacológica del factor acelera de forma importante la recuperación del epitelio tubular, tanto en infusión intrarrenal como por inyección subcutánea, aunque en humanos los estudios no son concluyentes.<sup>41</sup>

**PIEL:** Los receptores cutáneos para el FCE se distribuyen entre sus distintos componentes.<sup>42</sup>

**DERMIS:**

Células mioepiteliales.

Musculatura lisa vascular.

Células de la musculatura erectora del pelo.

**EPIDERMIS:**

Células basales de la epidermis.

Cuanto más indiferenciada es una célula, mayor número de receptores para el FCE tendrá, de aquí que haya mayor número en la membrana basal.

Células del conducto sudoríparo exocrino.

Sebocitos basales.

**BOCA:** Su actividad biológica se relaciona, en particular, con las células epidérmicas aunque posee efectos en las líneas neuronales, neuroendocrinas y neuroepidérmicas, osteoblásticas, musculares lisas y linaje monocito/macrófago; parece poseer un papel fundamental en la erupción de la dentadura incisiva. Desde hace algunos años se están llevando a cabo numerosos estudios experimentales clínicos basándose en las propiedades procicatriciales de los diferentes factores de crecimiento. Así por ejemplo se han utilizado el factor de crecimiento epidérmico para regeneración de nervios periféricos.<sup>43</sup>

#### **Otros.**

Tiene una potente capacidad inhibitoria para la secreción del ácido clorhídrico gástrico y promueve la proliferación celular epidérmica. La hormona del crecimiento está involucrada en el mecanismo supresor dependiente del factor de crecimiento epidérmico de la secreción del ácido clorhídrico gástrico.<sup>44</sup>

#### **Cicatrización de la Mucosa Oral**

El proceso de cicatrización de las heridas en la mucosa oral pasa por las mismas fases que en la piel (hemostasia e inflamación, proliferación y remodelación de la matriz); sin embargo, las lesiones orales sanan más rápido, con menos formación de tejido cicatrizal fibroso, menor contracción y sin formación de queloides, semejante a la regeneración de las heridas en los tejidos fetales. Diferentes estudios han sugerido que la capacidad regenerativa de la mucosa oral se debe en parte a factores anti-inflamatorios presentes en la saliva (citoquinas y factores de crecimiento) y con mayor importancia a diferencias genotípicas y fenotípicas exhibidas por los fibroblastos y miofibroblastos de la mucosa oral, que les permite organizar y

remodelar la matriz extracelular más rápido y con menor contracción en los procesos de cicatrización.<sup>45</sup>

### **3.2.3 EL TABAQUISMO**

Desde hace varios años se ha identificado al tabaquismo como una de las principales causas prevenibles de enfermedad y muerte en el mundo; investigaciones realizadas en diversos países, reportan un ascenso en las tasas de consumo de tabaco, particularmente en adolescentes y mujeres, así como una disminución en la edad de inicio de la conducta de fumar.

La Organización Mundial de Salud (OMS) indica que el hábito de fumar cigarrillos es causa directa o indirecta de cerca de 8 242 muertes por día y cuatro millones al año en el mundo, de las cuales la tercera parte ocurre en países en vías de desarrollo.

Las tendencias actuales indican que para el año 2020 más de 10 millones de personas morirán a causa del tabaco, la mitad de ellas durante la madurez productiva, con una pérdida individual de 10 a 20 años de vida, para el 2030 siete de cada 10 de las defunciones ocurrirán en países en vías de desarrollo.<sup>46</sup>

#### **A- Historia de tabaco**

Concretamente respecto al tabaco, las primeras noticias para el mundo occidental provienen del descubrimiento de América en 1492; cuando Cristóbal Colón piso tierra americana en Guanahaní, los indios de esta isla lo saludaron con un rito en la que le ofrecían unas hierbas, que bien podría tratarse de Tabaco.<sup>47</sup>

La relación entre el uso del tabaco y cáncer oral se remonta al siglo XVIII, cuando el cáncer del labio fue notado entre los consumidores del mismo.

#### **B- Componentes del tabaco:**

En el humo de combustión principal de un cigarrillo, hay aproximadamente 500 mg de humo, del cual (8%) son partículas de materia y 92% son gases. Fumar una cajetilla diaria equivale a 50,000 inhalaciones al año, exponiendo la boca, nariz, garganta, tráquea y pulmones al humo en cada inhalación. El humo de cigarro contiene cerca de 4000 constituyentes de los cuales 2550 son propiamente derivados del tabaco.<sup>48</sup>

Algunos de los componentes del humo del cigarrillo provienen directamente de la planta del tabaco, de los cuales el más importante es la Nicotina y otros que se forman cuando se quema la hoja del tabaco como Monóxido de Carbono, alquitrán y demás.

## **NICOTINA**

Es uno de los pocos alcaloides naturales líquidos no oxigenados, incoloro, oleaginoso, volátil e intensamente alcalino. Tiene una densidad de 1.027. En contacto con el aire toma un color marrón oscuro y es el responsable del característico olor del tabaco. Estructuralmente es la combinación de piridina y un anillo pirrolidínico.

De modo general, se establecen cantidades de nicotina que oscilan entre 0.9 y 1.3 mg/cigarrillo. Afortunadamente esta concentración no pasa en su totalidad al interior del individuo en el acto de fumar, sino que sólo se inhala en una proporción del 8 al 15%, lo que viene a representar una inhalación real de 0,15mg de nicotina por cada cigarrillo.( en la zona incandescente se destruye cerca del 25% de nicotina y el otro 30% es expulsado a la atmósfera).<sup>49</sup>

La nicotina es únicamente responsable de los efectos farmacológicos agudos de fumar y de la dependencia tabáquica, los efectos adversos a largo plazo, como los cardiovasculares, pulmonares y cancerígenos, son debidos a otros compuestos presentes en el humo del tabaco.<sup>50</sup>

Desde el pulmón, la nicotina es absorbida y transportada por la circulación pulmonar al resto del organismo. En apenas 10 segundos, la nicotina alcanza los receptores nicotínicos cerebrales, de modo que el pico plasmático máximo se obtiene en los primeros minutos del consumo. La nicotina es metabolizada fundamentalmente en el hígado pasando a cotinina, su principal metabolito, la detección de cotinina en sangre, orina, saliva, permite valorar la exposición al humo del tabaco.<sup>51</sup>

El consumo de nicotina en grandes dosis paraliza el sistema nervioso autónomo, impidiendo la transmisión de impulsos a través de los espacios intercelulares de las neuronas (espacios sinápticos), en dosis mayores puede producir convulsiones y muerte.

### Monóxido de Carbono

El CO se une a la hemoglobina de los glóbulos rojos e impide que se le una el oxígeno, formando carboxihemoglobina. Esto provoca hipoxia en los tejidos, especialmente en el cerebro y el corazón. La carboxihemoglobina produce daño endotelial arterial, favorece la adhesión plaquetaria en la lesión endotelial, lo que a su vez favorece la formación de placas de ateroma.<sup>52</sup>

### Alquitrán

Son las sustancias marrón amarillentas que producen el fuerte y desagradable olor acre. Se sabe que contiene por lo menos 10 sustancias que producen cáncer denominados carcinógenos. Además tienen otras sustancias llamadas coarcinógenos, que no producen cáncer por sí mismas, pero que aceleran el proceso de producción de tumores malignos cuando hay carcinógenos.<sup>53</sup>

Una vez que la persona aspira el humo del cigarrillo, pasa a través de la boca y vías respiratorias hasta llegar a los pulmones. En los pulmones algunas de las sustancias del humo pasan hacia la sangre, tal como lo hace el oxígeno. Desde la sangre estas sustancias dañinas pueden alcanzar cualquier órgano o tejido. Por tanto, los compuestos presentes en el humo de tabaco pueden ejercer sus efectos nocivos desde los labios del fumador, hasta la célula más alejada de sus pulmones pasando por boca, garganta, tráquea, bronquios, pulmones, vasos sanguíneos, corazón cerebro, etc.<sup>54</sup>

Los fumadores reciben un estímulo gratificante inicial que va seguido de depresión y fatiga, lo que lleva al adicto a administrarse más nicotina, tanto para obtener los efectos deseados, tales como placer o mejora del rendimiento, como para evitar el síndrome de abstinencia que se caracteriza por ira, ansiedad, necesidad de consumo, dificultad para concentrarse, hambre, impaciencia e intranquilidad.

Los fumadores tienen una disminución en el rendimiento para el ejercicio máximo y un sistema inmunológico menos eficaz comparado con la población no fumadora. Otros hallazgos demuestran que cuando se comparan estos dos grupos, en el primero se encuentra una disminución de las concentraciones leucocitarias de vitamina C, ácido úrico, sérico y albúmina, además de que la proporción entre colesterol lipoproteínico de alta y baja densidad es menor.

Otro dato significativo es que la aparición de arrugas faciales se adelanta en los fumadores, por otra parte, el acné intenso en los adolescentes es más frecuente.

### **C.- Tabaco como un factor carcinogénico en general.**

El hábito tabáquico se ha ligado muy firmemente al cáncer de pulmón, laringe, esófago, boca, vejiga y páncreas, la variación en la incidencia entre diferentes grupos o poblaciones al cáncer puede ser explicado por la diferencia en exposición a promotores y/o iniciadores carcinogénicos. Por ejemplo el uso de tabaco y alcohol aumentan significativamente el riesgo de desarrollar cáncer, indicando un papel etiológico.

Estudios han demostrado que hay un aumento en el riesgo de desarrollar cáncer en individuos cuyo sistema de inmunidad tiene defectos congénitos o han sido suprimidos por quimioterapia contra varias enfermedades.<sup>55</sup>

Los compuestos del humo de los cigarrillos, especialmente hidrocarburos policíclicos y nitrosaminas son potentes carcinógenos en animales y con gran probabilidad intervienen en la etiología de los carcinomas de pulmón en humanos.

El benzopyreno, un carbón de hidrogeno ("tar"), el más potente de los factores carcinogénicos, se une a nucleoproteínas y es mutagénico al mismo tiempo que



carcinogénico. La asociación entre el uso de tabaco y malignidades orales, también incluye a los puros, tabaco para pipas y preparaciones masticables.

Algunas enzimas pueden metabolizar carbones de hidrogeno "tars" de tabaco a formas carcinogénicas. Aryl hydroxylasa (AHH), una enzima principalmente en leucocitos humanos, aumenta la carcinogenicidad del benzopyrene. Debido a esto, los consumidores de tabaco que producen una alta cantidad de esta enzima, pueden tener un riesgo muy alto en el desarrollo de malignidades en áreas de colocación de tabaco masticado.

La nitrosonornicotina ha sido identificada como un producto no combustible, lo que significa que no está presente en un cigarrillo, solo está presente en el tabaco de masticar y posea actividad carcinogénica. Ello demuestra que otros productos que no sean "tars" pueden ser tumorigénico.<sup>56</sup>

#### **D.- Tabaco como factor carcinogénico específicamente en cavidad oral.**

El 90% del riesgo del cáncer oral se atribuye al tabaco y el riesgo relativo para los fumadores es 7 veces mayor que para los no fumadores. Es evidente que el uso inmoderado del tabaco produce cambios en la mucosa oral caracterizados por engrosamiento, sequedad, coloración grisácea y finalmente, con el transcurso de los años, cambios de aspecto leucoplásico. La suspensión del uso del tabaco en muchos casos hace a estos cambios reversibles, volviendo a mucosa a readquirir su aspecto normal.

Si en estos casos se examinan cuidadosamente los antecedentes y hábitos de los pacientes afectados con cáncer oral, se podrá establecer un porcentaje alto de uso del tabaco en el límite superior de los valores estadísticos y lo que es aún más importante, de consumo tabáquico con el uso asimismo inmoderado de alcohol en un número elevado de ellos.<sup>57</sup>

Son innumerables las investigaciones experimentales y epidemiológicas que demuestran la acción deletérea del tabaco sobre la mucosa bucal y el desarrollo de una Leucoplasia de la Mucosa Bucal. En una investigación de Santana y Col., del INOR y de la Facultad de Estomatología de La Habana, en 240 pacientes con LMB,

encontraron que en el 87,9 % la causa única fue el uso del tabaco; las lesiones por agresiones locales el 9,7 % y leucoplasia idiopática el 2,4 % (sin causa aparente).

**La Leucoplasia de la Mucosa Bucal (LMB).**- El tabaco, en cualquiera de sus formas es el protagonista principal en su generación, es una lesión evolutiva que comienza como una mancha blanquecina superficial de apariencia insignificante y puede llegar hasta una severa lesión preneoplásica que culmina, ocasionalmente, en un carcinoma epidermoide por lo cual se debe enfatizar que la LMB es un proceso evolutivo y que las características de cada una de las etapas de su desarrollo son específicas y diferentes:

**Queratosis difusa**, es la mínima expresión de un trastorno de la queratinización de la mucosa bucal. Se presenta como una mancha blanca, blanda, de contornos suaves y límites poco precisos. Es asintomática, pero por estar fundamentalmente asociada al fumar, y ser, en muchas ocasiones, una alteración de los iniciados en este vicio, su presencia puede estar relacionada con ardencia pero no así por la lesión, sino por el abuso del tabaco. Se trata de una lesión reversible que debe desaparecer al retirarse el irritante que la provocó.

**Queratosis focal**, está representada por una mancha blanca, nacarada, limitada, única o múltiple, que se halla discretamente elevada con una superficie algo dura y lisa o rugosa, situada en cualquier región de la mucosa bucal.

**Leucoplasia**, al referir las características clínicas de la leucoplasia se debe especificar que el intento se dirige al grado III de las queratosis bucales. La LMB aparece como una mancha blanquecina, blanco-grisácea o blanco-amarillenta, de superficie lisa o rugosa con tendencia a situarse profundamente en las superficies epiteliales, con sus bordes bien limitados o poco precisos. Puede tener un crecimiento verrugoso o exofítico. Histológicamente hay presencia de algún grado de disqueratosis o atipia epitelial.<sup>58</sup>

## **El tabaquismo en el contexto nacional**

Aproximadamente ocho millones de peruanos han consumido tabaco alguna vez en su vida, y aproximadamente medio millón son dependientes de esta droga, siendo la relación de tres hombres a una mujer dependientes del mismo. En relación al consumo en adolescentes, los varones tienen mayor probabilidad de haber consumido tabaco que las mujeres y a la edad de 19 años, 9 de cada 10 adolescentes ya han consumido tabaco.

Ante este panorama cómo de ah podido ver párrafos arriba, que acarrea el Tabaquismo, la Organización Mundial de la Salud, decidió elaborar un tratado internacional que permita abordar de manera integral la problemática del tabaquismo en el mundo, producto de ello es el Convenio Marco para el Control del Tabaco – CMCT.

Nuestro país ha participado activamente en el proceso de elaboración, negociación y adopción del Convenio Marco, suscribiéndolo el 21 de abril del 2004, siendo ratificado por el Congreso de la República mediante la Resolución Legislativa N° 28280 el 24 de junio del 2004 y promulgado por el señor Presidente Constitucional de la República el 16 de julio del mismo año.<sup>59</sup>

En el Perú el problema es tan grave que podemos esperar 9000 muertes por causas atribuibles al cigarrillo cada año, es decir, aproximadamente una muerte cada hora por su consumo. En el Instituto Especializado de Enfermedades Neoplásicas (INEN) 90% de pacientes de cáncer de pulmón han sido fumadores.

Una encuesta anónima a 588 trabajadores del INEN en la cual se encontró una prevalencia de tabaquismo de 18,7%. Por grupos ocupacionales se pudo observar que los empleados son los que más fuman (30,0%), seguido por los médicos (21,8%), el grupo de nutricionistas (15,8%) y el personal de enfermería (10,5%).<sup>60</sup>

Las Encuestas Nacionales de Prevención y Consumo de Drogas (12-64 años) realizadas en población urbana de ciudades de 20 000 y más habitantes por la Comisión Nacional para el Desarrollo y Vida sin Drogas DEVIDA, muestran que en el

período 1998-2010, la tendencia de la prevalencia del consumo de tabaco en el último año y de la prevalencia de consumo de vida han sido descendentes alcanzando su valor más bajo el año 2010.<sup>61</sup>

Así pues, el consumo de drogas legales requiere más atención de la que actualmente recibe. La prevención del consumo de drogas ilegales debe comenzar previniendo el consumo de las drogas que les preceden, como son las legales. Aunque muchos organismos tanto públicos como privados se encuentran empeñados en acciones de prevención, aún la tarea es ardua y requiere una activa participación de todos los sectores de la sociedad peruana.

### **3.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS**

FCE.- Factor de Crecimiento Epidermal

pH.- Potencial de Hidrógeno

STH.- Saliva Total no Estimulada.

STHe.- Saliva Total Estimulada

PT.- Proteínas Totales.

ARNm.- Acido Ribonucleico mensajero.

ADN.- Acido Desoxirribonucleico

MPF.- Factor Promotor de Mitosis.

Apoptosis.- Muerte Celular Programada.

BMP.- Son proteínas oseas morfogeneticas.

GH.- Hormona de Crecimiento

PRL.- Prolactina

ACTH.- Hormona Adenocorticotropica.

Hiperplasia.- Crecimiento celular en número.

Hipertrofia.- Crecimiento celular en tamaño.

COX2.- Cicloxigenasa 2

FSH.- Hormona Folículo Estimulante.

LMB.- Leucoplasia de la Mucosa Bucal

### **3.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES**

Hay un aumento de los valores de Factor de Crecimiento Epidermal en Saliva de Fumadores de Tabaco en relación a la muestra de Saliva de no Fumadores.

Variables Independientes: Tabaquismo

Variables Dependientes: Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (FCE)

Variables Intervinientes: Edad  
Género

### 3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN	INDICADOR	TIPO DE MEDICIÓN	ESCALA	VALOR
TABAQUISMO	Enfermedad crónica caracterizada por el consumo de tabaco	Clasificación según número de cigarrillos diarios de la OMS	Cualitativa	Ordinal	0= No Fumador 1= Fumador Leve(1-5) 2= Fumador Moderado (6 – 15) 3= Fumador Severo(16 a más)
CONCENTRACIÓN DE FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL(FCE)	Concentración del polipéptido encargado de mantener la integridad de los tejidos	AssayMax Human Epidermal Growth Factor ELISA Kit	Cuantitativa	Razón	ng/ml
Edad	Entiéndase por la cantidad de años que tiene una persona	Número de años cumplidos desde el nacimiento hasta la fecha	Cuantitativa	Razón	1=18-31 años 2=32-45 años 3=46-60 años
Género	Condición orgánica que distingue al varón de la mujer	Características sexuales secundarias	Cualitativa	Nominal	1=Masculino 2=Femenino

## **IV. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **4.1 Tipo de estudio**

Estudio de tipo descriptivo, prospectivo, comparativo y transversal. Según el problema propuesto y los objetivos planteados, el estudio es una investigación de tipo:

ANALITICO, Se considera analítico porque relaciona variables.

PROSPECTIVO, Se considera prospectivo porque se registra la información mientras van ocurriendo los fenómenos.

COMPARATIVO, Se considera comparativo porque compara la concentración de FCE en dos grupos(casos y controles).

TRANSVERSAL, porque nos va permitir medir las concentraciones de FCE en un punto específico de tiempo.

### **4.2 POBLACIÓN Y MUESTRA**

#### **Población**

La población estuvo conformada por todos los pacientes, de ambos sexos, de 18 a 60 años de edad que acudieron al servicio de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

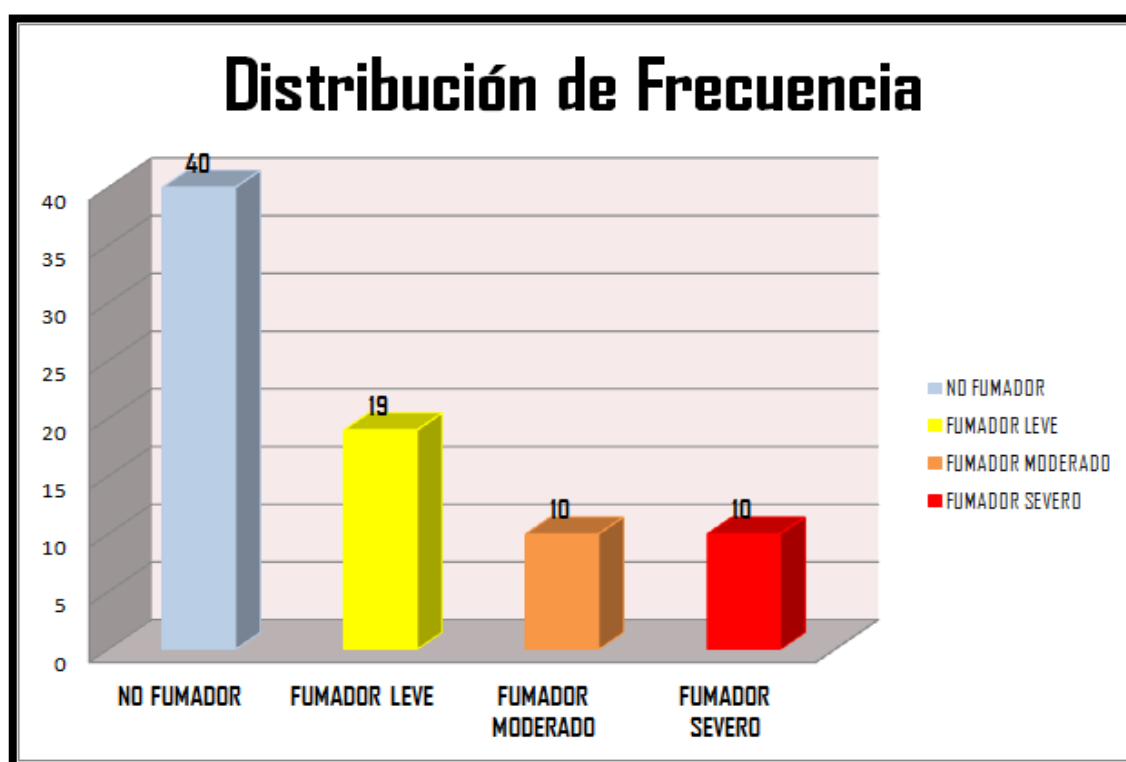
#### **Muestra**

En el presente trabajo, el número de muestra se determinó por muestreo no probabilístico, y de tipo intencional o por conveniencia, determinando la cantidad de pacientes para la investigación necesarias de acuerdo a las investigaciones revisadas en los antecedentes La muestra estuvo conformada por 79 pacientes distribuidos como se observa en la Tabla N° 1:

**Tabla 1: Distribución de la muestra.**

MUESTRA	n
No Fumador	40
Fumador Leve	19
Fumador Moderado	10
Fumador Severo	10

**Gráfico 1: Distribución de la muestra en grupos**



Fuente: Datos de la investigación



### **Criterios de Inclusión**

- Pacientes que se encuentren en el intervalo de 18 - 60 años
- Para el grupo control serán incluidos pacientes clínicamente sanos, sin hábitos de tabaquismo
- Para los demás grupos serán incluidos pacientes con hábitos de Tabaquismo.

### **Criterios de Exclusión**

- Pacientes con Enfermedad Sistémica
- Pacientes con Enfermedad Terminal
- Pacientes con Lesiones clínicamente visibles en mucosa bucal
- Pacientes con patologías crónicas que puedan interferir con los resultados.
- Pacientes que reciban o hayan estado recibiendo tratamiento de quimioterapia o radioterapia.
- Pacientes que quirúrgicamente se le haya extraído una glándula salival mayor.
- Pacientes con tumores en las glándulas salivales mayores.
- Pacientes que usen medicamentos que puedan interferir con el flujo salivar tales como Beta bloqueadores, antidepresivos tricíclicos, o antihistamínicos con efecto anticolinérgico.
- Pacientes que no firmen el Consentimiento Informado.

### **Unidad de Análisis**

La unidad de análisis fue la saliva en boca de los pacientes que acudieron al servicio de diagnóstico de la facultad de odontología

### **4.3 Procedimientos y Técnicas**

Estructura y Diseño del Instrumento

El instrumento que se utilizó en el siguiente trabajo fue una evaluación de acuerdo a la Clasificación de fumadores de la Organización Mundial de la Salud(OMS) del año 2006.

Según la OMS(2006) el tipo de consumo está asociado con el número de cigarrillos que se fuma al día, así que se ha desarrollado como estrategia para evaluar el nivel de consumo asumiendo como factor principal la frecuencia diaria de consumo, sin tener en cuenta otros aspectos claves como la intensidad de la ingesta y los problemas asociados al consumo. Así de acuerdo con la OMS los fumadores se clasifican en leves, moderados y severos en la siguiente escala:

Fumador Leve: Fuma desde 1 a 5 cigarrillos diarios.

Fumador Moderado: Fuma un promedio de 6 a 15 cigarrillos diarios.

Fumador Severo: Fuma de 16 a más cigarrillos diarios.

Asimismo para determinar la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal se siguió el Protocolo del Kit de ELISA de la casa ASSAYPRO, cuyo nombre comercial es AssayMax Human Epidermal Growth Factor(EGF) Catalog N° EE2011-1

### **Para la Recolección de Datos**

Durante el período de estudio comprendido entre Setiembre y Noviembre del 2013, se evaluaron a 79 pacientes, que acudieron al Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se revisó la Historia Clínica, la cual fue un primer filtro para los criterios de inclusión y exclusión

Enseguida se invito a los pacientes a participar de la investigación

Se les informó del estudio y previa firma del consentimiento informado, a cada uno se le registró los datos.

### **Para la recolección de Saliva**

Se recolectará las muestras de saliva según las recomendaciones de la Asociación Latinoamericana de Investigación en Saliva (ALAIS):

- No debe realizar ejercicio físico extenuante antes de la recolección.
- La saliva debe ser colectada a la misma hora del día.
- La recolección debe realizarse en un lugar tranquilo con suficiente luz.
- El paciente debe enjuagarse la boca y esperar 1 minuto antes de iniciar la recolección.
- Las muestras que contengan sangre, o algún detrito deben descartarse.

La mejor posición para la recolección de saliva es con el sujeto sentado, con la cabeza ligeramente inclinada hacia atrás y con los ojos abiertos, los sujetos no deben fumar, comer o beber por lo menos 1-2 horas antes de la sesión.

La muestra de saliva fue Total no estimulada.

- A continuación se le entregó un táper colector estéril para fluidos biológicos graduado de 100ml.
- El paciente colectó su saliva en piso de boca y fue vertiendo dentro del táper cada 60 segundos durante 5 minutos.
- Se rotuló los taperos y se guardó en un cooler con hielo para su traslado.

### **Para el Almacenamiento**

El almacenamiento se realizó en el laboratorio de Inmunología del Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión" de la UNMSM. previó tratamiento durante la fase de recolección.

- Se sacó los taperos del cooler y se dejó a temperatura ambiente
- Con un pipeta descartable tipo Pasteur, se trasladó la muestra a los tubos de ensayo
- Se centrifugó a 600rpm x10 minutos
- Con una pipeta Pasteur el sobrenadante se extrajo y se trasladó a los criotubos, mientras que el sedimento se descartó.

- A continuación se rotuló los criotubos y se almacenaron a -20°C
- El mismo procedimiento se realizó hasta conseguir el tamaño de muestra necesario.

### **Análisis de Muestra**

Para realizar la lectura de las muestras

Se importó el **Assay Max Human Epidermal Growth Factor(EGF) ELISA Kit**, solicitando un permiso especial a la Dirección General de Medicamentos y Drogas - DIGEMID, ya que esta no cuenta con un registro sanitario, la cual se otorgó con la condición de importar un sólo kit y por única vez.

Una vez adquirido el producto, los componentes de este se almacenaron siguiendo las indicaciones del fabricante:

El Conjugado Estreptavidina-Peroxidasa y el Anticuerpo Biotinilado a -20°C Microplaca ,Diluyente Concentrado, MIX Diluyente Concentrado , Tampón de Lavado, Solución de Parada y el Sustrato Cromógeno de 2-8°C.

Una vez recolectadas todas las muestras , las cuales se encontraban congeladas. Se inició el procedimiento para cuantificar la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal, para lo cual:

- Todos los componentes del Kit de ELISA se sacaron a temperatura ambiente 2 horas antes de iniciar el inmunoensayo y se prepararon siguiendo el protocolo del fabricante
- Se diluyó el diluyente concentrado MIX en la proporción de 1:10 con agua grado destilada.
- Se reconstituyó los 2ng de EGF estándar con 2 ml de Diluyente MIX y se generó una solución de 1 ng / ml. Se dejó sentarse durante 10 minutos con agitación suave antes de hacer diluciones.
- Se preparó por duplicado puntos estándar mediante la dilución en serie de la solución estándar (1 ng / ml) 1:2 con Diluyente de MIX y se produjo: 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625, 0,0313, y 0,0156 soluciones ng / ml. El Diluyente MIX sirvió como el patrón cero (0 ng / ml)

Standard Point	Dilution	[EGF] (ng/ml)
P1	Standard (1 ng/ml)	1.0000
P2	1 part P1 + 1 part MIX Diluent	0.5000
P3	1 part P2 + 1 part MIX Diluent	0.2500
P4	1 part P3 + 1 part MIX Diluent	0.1250
P5	1 part P4 + 1 part MIX Diluent	0.0625
P6	1 part P5 + 1 part MIX Diluent	0.0313
P7	1 part P6 + 1 part MIX Diluent	0.0156
P8	MIX Diluent	0.0000

- Se distribuyó las concentraciones estándar en los pocillos de la siguiente manera:

Columna1	Columna2	Columna3	Columna4
A	Blanco		
B	P1	P1	
C	P2	P2	
D	P3	P3	
E	P4	P4	
F	P5	P5	
G	P6	P6	P8
H	P7	P7	P8

- Se centrifugó brevemente el anticuerpo y se diluyó la cantidad deseada del anticuerpo 1:50 con Diluyente de MIX. Cualquier solución restante se congeló a -20°C.
- Se diluyó el concentrado del tampón de lavado 1:20 con agua grado destilada.
- Se decantó el Conjugado Streptovidina Peroxidasa brevemente y se diluyó la cantidad deseada 1:100 con diluyente de conjugado MIX . Cualquier solución restante debe congeló a -20 ° C.
- Se retiró las tiras de las microplacas en exceso del marco de la placa y se volvió a guardar de inmediato a la bolsa de aluminio con desecante dentro. Se cerró la bolsa firmemente para minimizar la exposición al vapor de agua.

- Se añadió 50u l de muestra(saliva) por pocillo. Se cubrió los pocillos con una cinta de sellado y se incubó durante dos horas. Se inició el temporizador después de la última adición de la muestra.
- Se lavó cinco veces con 200 ul de tampón de lavado manual. Invierta la placa cada vez y decantar el contenido; golpearlo 4-5 veces sobre una toalla de papel absorbente para eliminar por completo el líquido.
- Se añadió 50ul del anticuerpo biotinilado de EGF a cada pocillo y se incubó durante dos horas.
- Se lavó la microplaca como se describe anteriormente.
- Se añadió 50 ul de estreptavidina conjugada con peroxidasa a cada pocillo y se incubó durante 30 minutos.
- Se lavó la microplaca como se ha descrito anteriormente.
- Se añadió 50 ul de sustrato cromógeno por pocillo y se incubó durante unos 15 minutos o hasta que la densidad óptima del color azul se desarrolla. Se golpeó suavemente la placa para mezclar bien y romper las burbujas en el pozo con punta de la pipeta.
- Se añadió 50ul de solución de parada a cada pocillo. El color cambia de azul a amarillo, esto indica que la reacción se detuvo.
- A continuación se realizó la lectura de la absorbancia en un lector de microplacas a una longitud de onda de 450 nm. La cuál arrojó las siguientes densidades ópticas DO:

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1															
2	Software Version	2.00.18													
3															
4	Plate Number	Plate 1													
5	Date	06/12/2013													
6	Time	03:48:46 p.m.													
7	Reader Type:	ELx800													
8	Reader Serial Number:	Unknown													
9	Reading Type	Reader													
10															
11	<b>Procedure Details</b>														
12	Plate Type	96 WELL PLATE													
13	Read	Absorbance Endpoint													
14		Full Plate													
15		Wavelengths: 450													
16		Read Speed: Normal													
17															
18	<b>Results</b>														
19															
20			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
21	A	0.118				0	0	0	0	0	0	0	0	0	450
22	B	1.263	1.504			0	0	0	0	0	0	0	0	0	450
23	C	1.35	1.343			0	0	0	0	0	0	0	0	0	450
24	D	0.859	0.84			0	0	0	0	0	0	0	0	0	450
25	E	0.495	0.483			0	0	0	0	0	0	0	0	0	450
26	F	0.259	0.272			0	0	0	0	0	0	0	0	0	450
27	G	0.184	0.179	0.08		0	0	0	0	0	0	0	0	0	450
28	H	0.123	0.197	0.094		0	0	0	0	0	0	0	0	0	450
29															

- Se restó el blanco a cada uno de los valores obtenidos, los datos en negativo se consideraron 0.

Columna	1	2	3	
A	$0.118 - 0.118 = 0$			
B	$1.263 - 0.118 = 1.145$	$1.504 - 0.118 = 1.386$		
C	$1.35 - 0.118 = 1.232$	$1.343 - 0.118 = 1.225$		
D	$0.859 - 0.118 = 0.741$	$0.84 - 0.118 = 0.722$		
E	$0.495 - 0.118 = 0.377$	$0.483 - 0.118 = 0.365$		
F	$0.259 - 0.118 = 0.141$	$0.272 - 0.118 = 0.154$		
G	$0.184 - 0.118 = 0.066$	$0.179 - 0.118 = 0.061$	$0.08 - 0.118 = -0.038$	} 0
H	$0.123 - 0.118 = 0.005$	$0.197 - 0.118 = 0.079$	$0.094 - 0.118 = -0.024$	

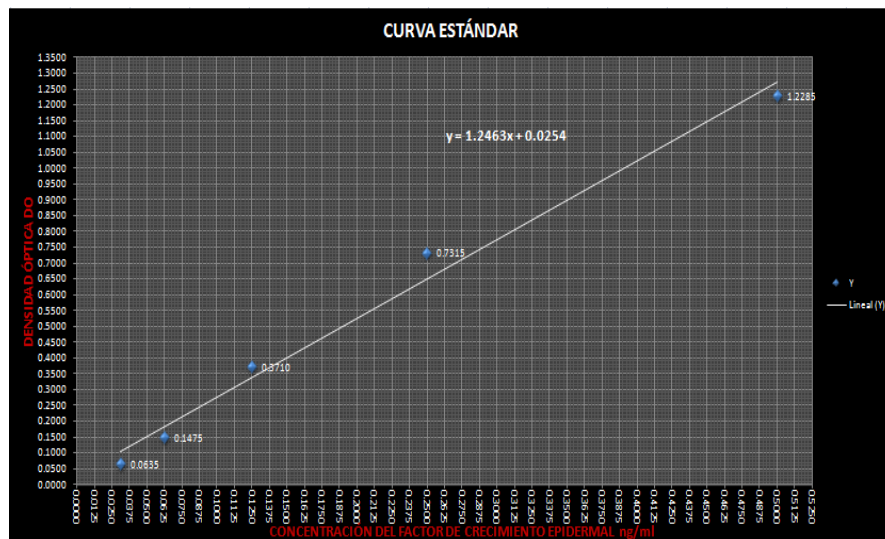
- Al tener los puntos estándar por duplicados, se sacó el promedio de estos

Columna	Densidad óptica DO
(P1+P1)/2	1.2655
(P2+P2)/2	1.2285
(P3+P3)/2	0.7315
(P4+P4)/2	0.371
(P5+P5)/2	0.1475
(P6+P6)/2	0.0635
(P7+P7)/2	0.042
(P8+P8)/2	0

- Enseguida las densidades ópticas obtenidas se alineó con los Concentraciones del Factor de Crecimiento Epidermal que le dieron origen.

Densidad óptica DO	EGF CC(ng/ml)
1.2655	1
1.2285	0.5
0.7315	0.25
0.371	0.125
0.1475	0.0265
0.0635	0.0313
0.042	0.0156
0	0

- A continuación se elaboro una curva, y se trazó una recta la cual interceptaba la mayor cantidad de puntos, cuya ecuación fue la siguiente  $y = 1.2463x + 0.0254$



- Una vez obtenida la ecuación se volvió a realizar el inmunoensayo, esta vez con las muestras de saliva de los pacientes, para lo cual todas las muestras se colocaron a 5° C durante 24 horas y posteriormente se descongelaron a temperatura ambiente por 2 horas.
- Se siguió el protocolo del fabricante. Las lecturas(DO) obtenidas fueron las siguientes:



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1															
2	Software Version	2.00.18													
3															
4	Plate Number	Plate 1													
5	Date	13/12/2013													
6	Time	04:56:31 p.m.													
7	Reader Type:	ELx800													
8	Reader Serial Number:	Unknown													
9	Reading Type	Reader													
10															
11															
12	Plate Type	96 WELL PLATE													
13	Read	Absorbance Endpoint													
14		Full Plate													
15		Wavelengths: 450													
16		Read Speed: Normal													
17															
18	Results														
19															
20			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
21	A	0.047	0.783	1.163	0.273	0.812	1.209	1.803	0.88	0.86	0.438	0	0	450	
22	B	0.24	0.702	1.305	0.723	2.748	1.815	1.292	0.884	0.991	0.466	0	0	450	
23	C	1.174	0.579	0.714	0.877	0.721	1.433	1.224	1.208	1.252	0.337	0	0	450	
24	D	0.561	0.651	0.579	0.361	2.51	1.819	1.258	0.783	1.017	1.428	0	0	450	
25	E	0.405	1.708	0.468	0.744	2.053	2.029	1.459	0.634	0.953	1.375	0	0	450	
26	F	0.355	1.496	1.046	0.159	1.909	1.306	1.705	1.613	2.111	1.091	0	0	450	
27	G	0.756	0.617	0.841	0.555	2.667	1.175	0.856	1.02	0.798	1.339	0	0	450	
28	H	0.748	1.49	1.692	0.706	2.421	1.469	0.568	1.293	1.06	0	0	0	450	
29															

- Nuevamente se restó el blanco a todos los datos.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0	0.736	1.116	0.226	0.765	1.162	1.756	0.833	0.813	0.391	0	0	450
B	0.193	0.655	1.258	0.676	2.701	1.768	1.245	0.837	0.944	0.419	0	0	450
C	1.127	0.532	0.667	0.83	0.674	1.386	1.177	1.161	1.205	0.289	0	0	450
D	0.514	0.604	0.532	0.314	2.463	1.772	1.211	0.736	0.97	1.381	0	0	450
E	0.358	1.661	0.421	0.697	2.006	1.982	1.412	0.587	0.906	1.328	0	0	450
F	0.308	1.449	0.999	0.112	1.862	1.259	1.658	1.566	2.064	1.044	0	0	450
G	0.709	0.57	0.794	0.508	2.62	1.128	0.809	0.973	0.751	1.292	0	0	450
H	0.701	1.443	1.645	0.659	2.374	1.422	0.521	1.246	1.013	0	0	0	450

- Estas densidades ópticas se reemplazaron en la ecuación y esta nos arrojó el valor las concentraciones del Factor de crecimiento epidermal(EGF) ng/ml de las muestras.

## Procesamiento de datos.

Se aplicaron métodos, instrumentos y procedimientos de acuerdo a lo siguiente:

- Se verificó de las Fichas de Registro de la Información para identificar sesgos (datos incompletos, contradictorios, falsos, vacíos o aquellos que no hayan seguido las pautas propuestas en la investigación)
- Se codificó y otorgó una cifra a cada dato obtenido.
- Se utilizó el programa Microsoft Excel 7.0 para Windows XP
- Se utilizó el programa estadístico SPSS .versión 20

### **Análisis de Resultados**

A nivel descriptivo el análisis univariado comprendió las medidas de tendencia central(promedio, desviación estándar e intervalo de confianza) para la variable de estudio, concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en cada grupo.

Para la comparación de los grupos se utilizaron las pruebas estadísticas de Kruskal Wallis, U Mann Whitney.

## V. RESULTADOS

### FCE con respecto al Tabaquismo

#### No Fumador

Se encontró que en la muestra la Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal varía desde 0.069 ng/ml hasta los 1.312 ng/ml. En relación a las medidas de tendencia central se obtuvo en la media un valor de 0.582, en la mediana un valor de 0.52 y en la desviación estándar un valor de 0.325. Como se observa en la tabla 2

**Tabla 2: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) para No Fumador**

Media		.58175
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	.47795
	Límite superior	.68555
Mediana		.52000
Varianza		.105
Desviación estándar		.324551
Mínimo		.069
Máximo		1.312
Rango		1.243
Rango intercuartil		.473
Asimetría		.710
Curtosis		-.239

#### Fumador Leve

Se encontró que en la muestra la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal varía

desde 0.398 ng/ml hasta los 1.589 ng/ml. En relación a las medidas de tendencia central se obtuvo en la media un valor de 0.857, en la mediana un valor de 0.792 y en la desviación estándar un valor de 0.320. Como se observa en la tabla 3

**Tabla 3: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) para Fumador Leve**

Media		.85689
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	.70228
	Límite superior	1.01150
Media recortada al 5%		.84172
Mediana		.79200
Varianza		.103
Desviación estándar		.320778
Mínimo		.398
Máximo		1.589
Rango		1.191
Rango intercuartil		.347
Asimetría		1.024
Curtosis		1.120

#### **Fumador Moderado**

Se encontró que en la muestra la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal varía desde 0.629 ng/ml hasta 2.147 ng/ml. En relación a las medidas de tendencia central se obtuvo en la media un valor de 1.088, en la mediana un valor de 0.979 y en la desviación estándar un valor de 0.472. Como se observa en la tabla 4.

**Tabla 4: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) para Fumador Moderado.**

Media		1.08780
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	.75006
	Límite superior	1.42554
Media recortada al 5%		1.05444
Mediana		.97850
Varianza		.223
Desviación estándar		.472130
Mínimo		.629
Máximo		2.147
Rango		1.518
Rango intercuartil		.517
Asimetría		1.484
Curtosis		2.003

### **Fumador Severo**

Se encontró que en la muestra la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal varía desde 0.520 ng/ml hasta 2.082 ng/ml. En relación a las medidas de tendencia central se obtuvo en la media un valor de 1.412, en la mediana un valor de 1.394 y en la desviación estándar un valor de 0.474. Como se observa en la tabla 5.

**Tabla 5: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) para Fumador Severo**

Media	1.41220
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior 1.07307 Límite superior 1.75133
Media recortada al 5%	1.42456
Mediana	1.39350
Varianza	.225
Desviación estándar	.474068
Mínimo	.520
Máximo	2.082
Rango	1.562
Rango intercuartil	.738
Asimetría	-.328
Curtosis	.069

### **Comparación del Factor de Crecimiento Epidermal en los diferentes grados de Tabaquismo**

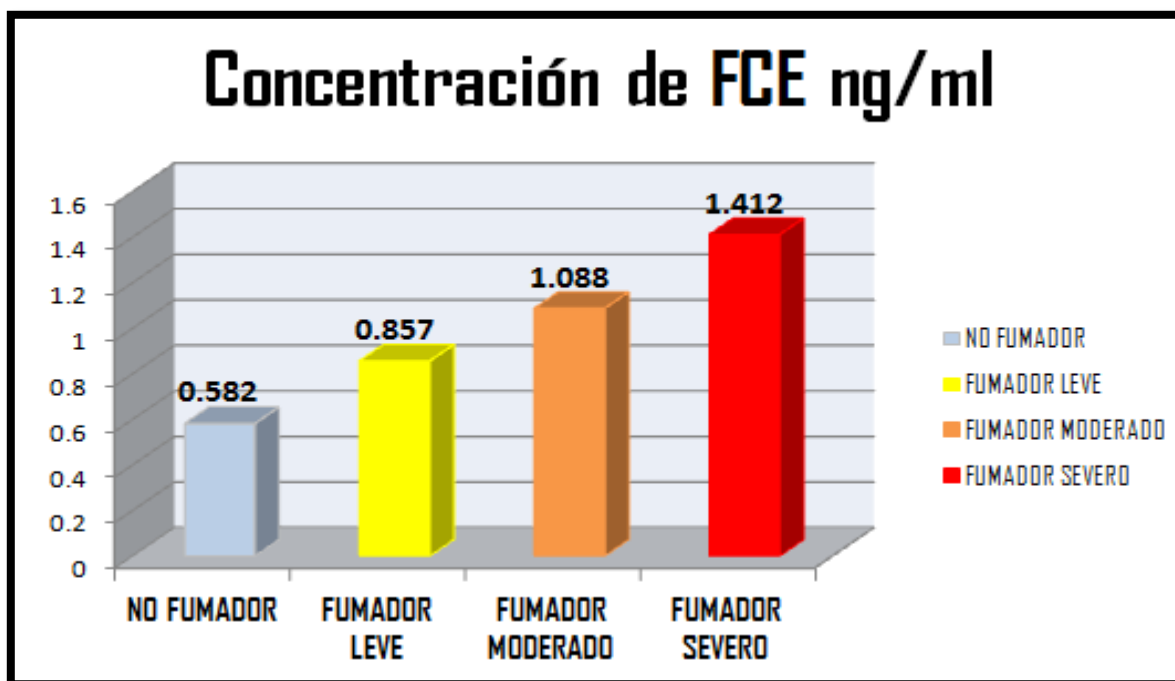
Se observa que la media para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal fue en aumento conforme aumentaba el consumo de tabaco en los grupos, desde el grupo del No Fumadores cuya media fue de 0.582 ng/ml, la media del Fumador Leve fue 0.857 ng/ml, la media del Fumador Moderado fue 1.088ng/ml, y por último el grupo del Fumador Severo cuya media fue de 1.412ng/ml. Ver tabla 6.

Estas diferencias fueron estadísticamente significativas, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis( $p=0,000$ ).

**Tabla 6: Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto al Tabaquismo**

GRUPO	MEDIA	S	IC 95%	N
NO FUMADOR	0,582	0,324	0,478-0,686	40
FUMADOR LEVE	0,857	0,320	0,702-1,011	19
FUMADOR MODERADO	1,088	0,472	0,750-1,426	10
FUMADOR SEVERO	1,412	0,474	1,073-1,751	10

**Gráfico 2: Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto al Tabaquismo**



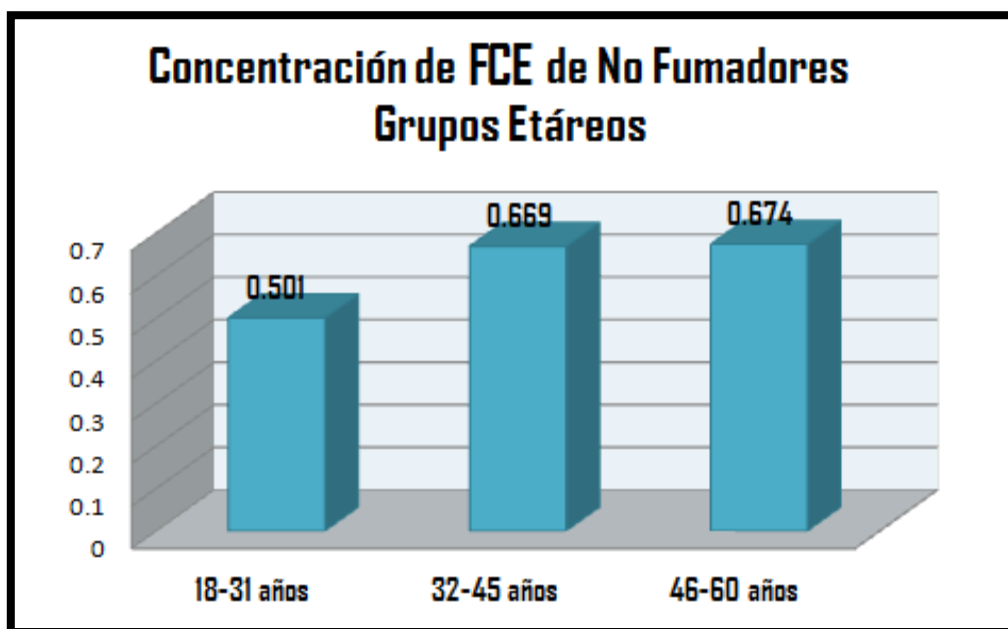
### FCE con respecto a la Edad

Se observa que la media para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal fue en aumento conforme aumentaba el rango de edad, desde el grupo etáreo de 18-31 años cuya media fue de 0.501 ng/ml, la media del grupo etáreo de 32-45 años fue 0.669 ng/ml y la media del grupo etáreo de 46-60 años fue 0,674 ng/ml. **Ver** Tabla 7. No se encontró diferencias estadísticamente significativas, ANOVA ( $p=0,259$ )

**Tabla 7: Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto a la Edad.**

EDAD	MEDIA	S	IC 95%	N
18-31 años	0,501	0,203	0,409-0,593	21
32-45 años	0,669	0,387	0,410-0,929	11
46-60 años	0,674	0,463	0,287-1,061	8

**Gráfico 3: Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con resepto a la edad**



## Frecuencia de No Fumador y Fumador con respecto al grupo Etéreo

**Grupo Etéreo 1: 18-31 años:** Estuvo conformado por 35(100%) pacientes, de los cuales 21(60%) fueron no fumadores, 9(25,7%) fumadores leves, 2(5,7%) fumadores moderados y 3(8,6%) fumadores severos

**Grupo Etéreo 2: 32-45 años:** Estuvo conformado por 20(100%) pacientes, de los cuales 11(55%) fueron no fumadores, 4(20%) fumadores leves, 3(15%) fumadores moderados y 2(10%) fumadores severos

**Grupo Etéreo 3: 46-60 años:** Estuvo conformado por 24(100%) pacientes, de los cuales 8(33,3%) fueron no fumadores, 6(25%) fumadores leves, 5(20,8%) fumadores moderados y 5(20,8%) fumadores severos. Ver tabla 8.

**Tabla 8: Tabla de contingencia Grupo etareo \* Tabaquismo**

			Tabaquismo				Total
			No fumador	Fumador leve	Fumador moderado	Fumador severo	
Grupo etareo	18-31 años	Recuento	21	9	2	3	35
		% dentro de Grupo etareo	60,0%	25,7%	5,7%	8,6%	100,0%
	32-45 años	Recuento	11	4	3	2	20
		% dentro de Grupo etareo	55,0%	20,0%	15,0%	10,0%	100,0%
	46-60 años	Recuento	8	6	5	5	24
		% dentro de Grupo etareo	33,3%	25,0%	20,8%	20,8%	100,0%
Total	Recuento	40	19	10	10	79	
	% dentro de Grupo etareo	50,6%	24,1%	12,7%	12,7%	100,0%	

## EGF y Tabaquismo con respecto a los Grupos Etéreos

### Grupo Etéreo 1: 18-31 años

En relación a las medidas de tendencia central se obtuvo: para los no fumadores una media de 0,501 y la desviación estándar un valor de 0,203; fumadores leves la

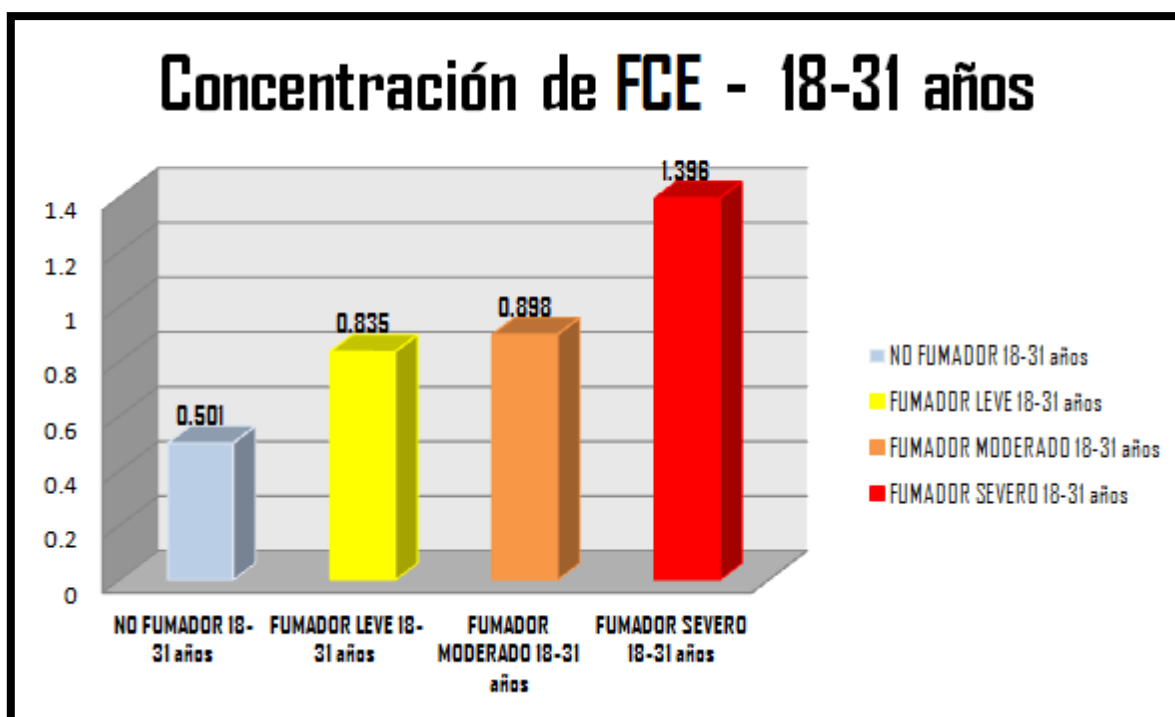


media fue 0,835, desviación estándar 0,152; fumadores moderados la media fue 0,898, desviación estándar 0,019 y para los fumadores severos la media fue 1,396, desviación estándar 0,007. Con una sig 0.000 según ANOVA. Tabla 9 y Gráfico 4.

**Tabla 9: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal, (ng/ml) del grupo etáreo de 18-31 años.**

FCE	Tabaquismo			Estadístico
Factor de Crecimiento Epidermal	No fumador	Media		,500943
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,408667
			Límite superior	,593219
		Mediana		,522000
		Desv. típ.		,2027184
	Fumador leve	Media		,835489
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,718702
			Límite superior	,952276
		Mediana		,911200
		Desv. típ.		,1519343
	Fumador moderado	Media		,898300
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,724225
			Límite superior	1,072375
		Mediana		,898300
		Desv. típ.		,0193747
	Fumador severo	Media		1,396067
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	1,379519
			Límite superior	1,412614
		Mediana		1,398200
		Desv. típ.		,0066613

**Gráfico 4: Media del Factor de Crecimiento Epidermal del grupo etáreo de 18-31 años**



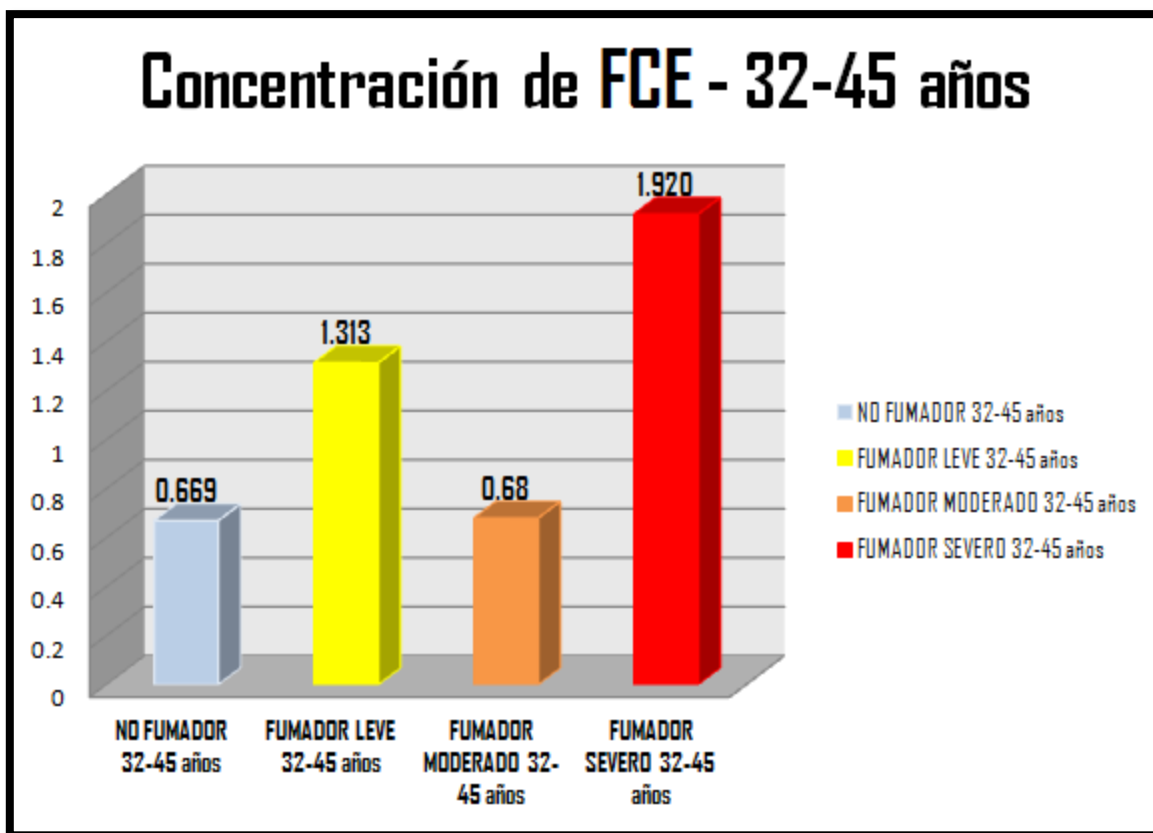
## **Grupo etáreo 2: 32-45 años**

En relación a las medidas de tendencia central se obtuvo para los no fumadores una media de 0,669 y la desviación estándar un valor de 0,387; fumadores leves la media fue 1,313, desviación estándar 0,313; fumadores moderados la media fue 0,680, desviación estándar 0,070 y para los fumadores severos la media fue 1,920, desviación estándar 0,050. Con una sig 0.001 según ANOVA. Como se observa en la tabla 10 y Gráfico 5.

**Tabla 10: Medidas de Resumen para la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal (ng/ml) del grupo etáreo de 32-45 años.**

FCE	Tabaquismo			Estadístico
Factor de Crecimiento epidermal	No fumador	Media		,669400
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,409643
			Límite superior	,929157
		Mediana		,518400
		Desv. típ.		,3866525
Factor de Crecimiento Epidermal	Fumador leve	Media		1,312800
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,814851
			Límite superior	1,810749
		Mediana		1,341300
		Desv. típ.		,3129347
	Fumador moderado	Media		,680133
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,505227
			Límite superior	,855040
		Mediana		,651200
		Desv. típ.		,0704095
	Fumador severo	Media		1,920100
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	1,466488
			Límite superior	2,373712
		Mediana		1,920100
		Desv. típ.		,0504874

**Gráfico 5: Media del Factor de Crecimiento Epidermal del grupo etáreo de 32-45 años**



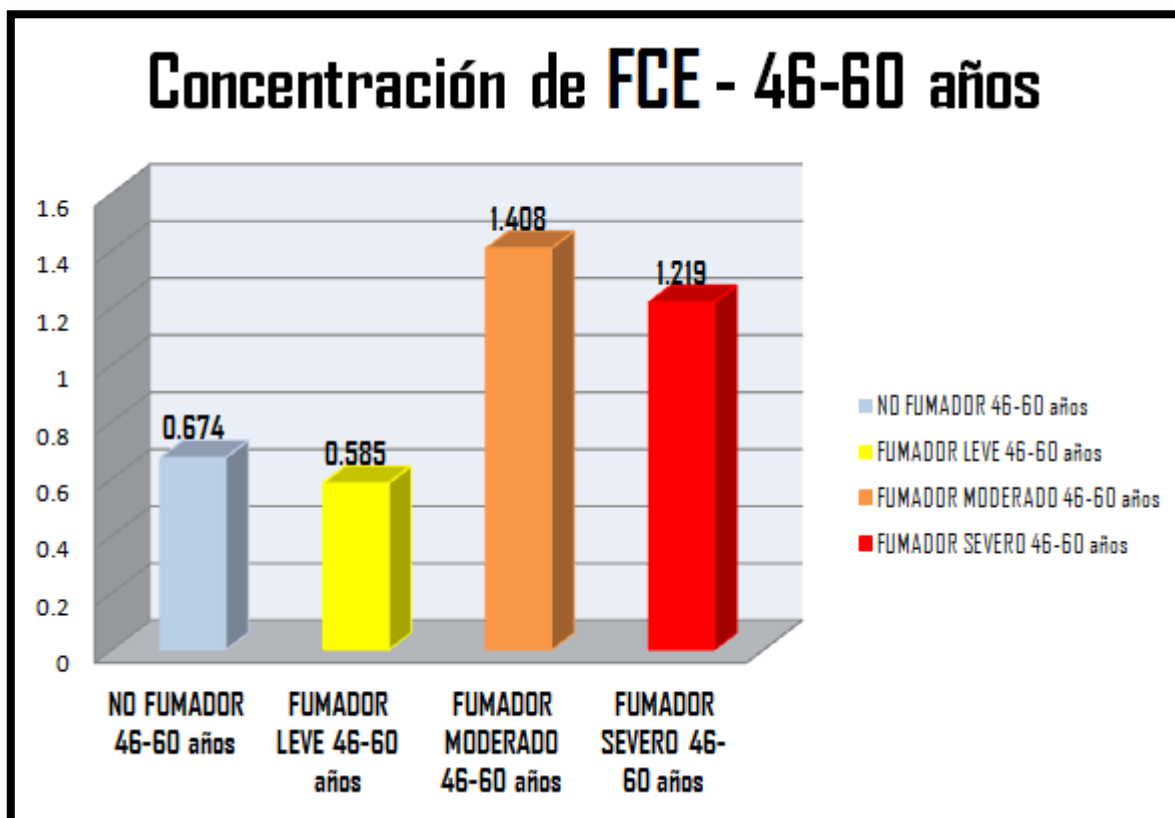
### **Grupo etáreo 3: 46-60 años**

En relación a las medidas de tendencia central se obtuvo para los no fumadores una media de 0,674 y la desviación estándar un valor de 0,463; fumadores leves la media fue 0,585, desviación estándar 0,138; fumadores moderados la media fue de 1,408, desviación estándar 0,478 y para los fumadores severos la media fue 1,219, desviación estándar 0,573. Con una sig 0.011 según ANOVA. Como se observa en la tabla 11 y gráfico 6.

**Tabla 11: Medidas de Resumen para la concentración del Factor deCrecimiento Epidermal (ng/ml) del grupo etáreo de 46-60 años.**

FCE	Tabaquismo			Estadístico
Factor de Crecimiento epidermal	No fumador	Media		,673800
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,286630
			Límite superior	1,060970
		Mediana		,487900
		Desv. típ.		,4631110
	Fumador leve	Media		,585000
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,440147
			Límite superior	,729853
		Mediana		,609100
		Desv. típ.		,1380295
	Fumador moderado	Media		1,408000
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,815091
			Límite superior	2,000909
		Mediana		1,120600
		Desv. típ.		,4775114
	Fumador severo	Media		1,218960
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,506935
			Límite superior	1,930985
		Mediana		1,236200
		Desv. típ.		,5734443

**Gráfico 6. Media del Factor de Crecimiento Epidermal del grupo etáreo de 46-60 años**



#### **Frecuencia de fumador y no fumadores con respecto al Género**

Existe diferencia en la proporción de hombres y mujeres entre los grupos. Lo que indica que existe mayor proporción de hombres fumadores y básicamente la diferencia se da por el grupo de fumadores leves. Ver Tabla 12.

**Tabla 12: Tabla de contingencia Hábito de fumar \* Género**

			Género		Total
			masculino	Femenino	
Hábito de fumar	no fuma	Recuento	18	22	40
		% dentro de Género	36,0%	75,9%	50,6%
	fumador leve	Recuento	19	0	19
		% dentro de Género	38,0%	0,0%	24,1%
	fumador moderado	Recuento	6	4	10
		% dentro de Género	12,0%	13,8%	12,7%
	fumador severo	Recuento	7	3	10
		% dentro de Género	14,0%	10,3%	12,7%
	Total	Recuento	50	29	79
		% dentro de Género	100,0%	100,0%	100,0%

Chi Cuadrado p 0.001

### **Factor de Crecimiento Epidermal con respecto al Género**

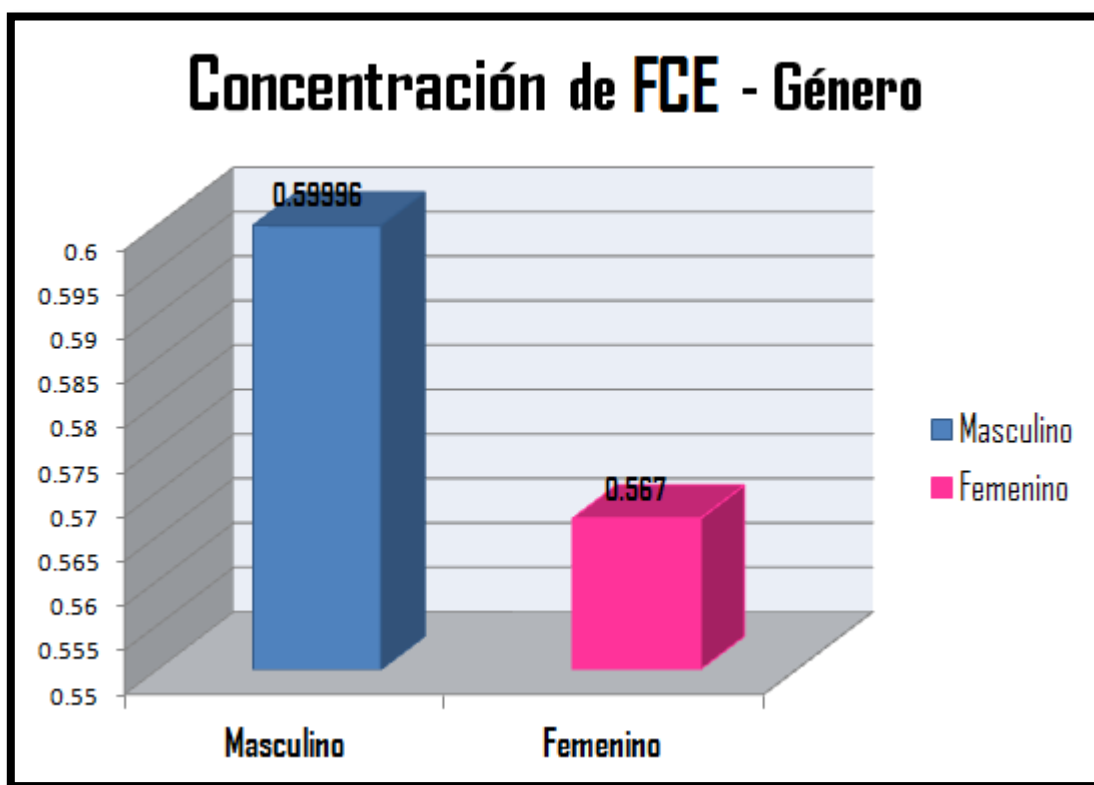
No hay diferencias significativas en la concentración del FCE entre hombres y mujeres

**Tabla 13: Factor de crecimiento Epidermal con respecto al Género**

Género	FCE ng/ml Promedio	N	Desviación Estándar
Masculino	0,59996	18	,317602
Femenino	0,56700	22	,336795
Total		40	

U Mann Whitney 0.714

Gráfico 7: Concentración del Factor de crecimiento Epidermal con respecto al Género





## **VI. DISCUSIÓN**

En el presente estudio se evaluó la relación entre tabaquismo y la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal; de 79 pacientes que acudieron al servicio de diagnóstico de la Facultad de Odontología de la UNMSM, 40 (40.50%) fueron no fumadores, 19 (19.24%) fueron fumadores leves, 10(10.13%) fueron fumadores moderados y 10 (10.13%) fueron fumadores severos; los cuales, no se lavaron los dientes, ni comieron, ni bebieron (excepto agua), 2 horas antes de la recolección de las muestras; las que fueron recolectadas a la misma hora del día entre las 9:00 y 11:00 horas, en el mismo ambiente, el paciente sentado con la porción torácica formando un ángulo de 90° con respecto a las extremidades inferiores, ubicado cómodamente en el sillón dental, con la espalda apoyada en el respaldo; en posición relajada, con el mínimo de movimientos.

En la revisión de la literatura nacional no se encuentran trabajos en los que se relacione tabaquismo y concentración del factor de crecimiento epidermal en saliva. Todos los antecedentes fueron tomados de la literatura extranjera.

### **Concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto al Tabaquismo**

Varios autores indican haber encontrado valores para la FCE menores en los fumadores en relación a los no fumadores.

Ma, L. y cols. (9) 2000. Encontraron que los fumadores tienen un menor nivel del factor salival crecimiento epidérmico (FCE) que los no fumadores. Además concluye que los efectos perjudiciales del humo del cigarrillo en la cicatrización de la úlcera es una consecuencia de la reducción de la angiogénesis, proliferación celular y la secreción de moco por la acción depresiva sobre la biosíntesis de FCE y su expresión de ARNm en las glándulas salivales y la mucosa gástrica. Estos resultados los obtienen a partir de muestras en ratas, a las cuales ocasionan úlceras, para luego exponerlas al humo de cigarrillo, por un determinado tiempo.

Esto es cierto, ya que la exposición al humo de cigarrillo no fue continua y constante en el tiempo. Lo que provocó la disminución del FCE y por ende la alteración en las propiedades benéficas de este, tal como lo indica Ma. y col.

La exposición al humo del cigarrillo tiene muchos factores a evaluar y considerar tales como, la intensidad de exposición, el número de cigarrillos, la intensidad de la ingesta, etc. El tiempo del hábito es primordial en este caso, ya que si la exposición al humo de cigarrillo es por única vez o muy esporádicamente, el organismo va a reaccionar de forma diferente a si esta exposición es diaria y continua . Por lo tanto una exposición corta al humo de cigarrillo, nos daría como síntomas: irritación, mal aliento, cefalea, y otros. Sin embargo la exposición a humo de cigarrillo por tiempos prolongados van a dar una sintomatología con afectación crónica en distintos órganos, y a nivel sistémico tales como las neoplasias.

Gutiérrez Nova P En el 2008 en México. Hicieron una asociación entre el tabaquismo crónico, el pH, las proteínas totales (PT) y el FCE en saliva de fumadores y no fumadores, para lo cual ellos seleccionaron 19 pacientes, 10 no fumadores y 9 fumadores de entre 20 y 60 años de edad. Cuantificaron el FCE usando la técnica de ELISA para lo cual utilizaron un Kit comercial de nombre ELISA Kit KHG0061 de la casa BIOSOURCE. Obtuvieron como resultado que el FCE fue en STH (Saliva Total no Estimulada) de no fumadores  $14,8 \pm 5,62$  ng/ml comparado con los fumadores con un promedio de  $11,4 \pm 5,45$  ng/ml. En STHe (Saliva Total Estimulada), el promedio del mismo factor fue en los no fumadores de  $7,8 \pm 5,60$  ng/ml y en los fumadores a  $9,1 \pm 6,53$  ng/ml. Con una confiabilidad del 90%.

En la presente investigación se seleccionó 79 pacientes, 40 no fumadores y 39 fumadores; se cuantificó el FCE utilizando la misma técnica de ELISA, se empleó un Kit comercial de nombre AssayMax Human Epidermal Growth Factor ELISA Kit de la casa ASSAYPRO, el cual se puede utilizar con muestras de orina, saliva, leche y muestras de cultivo celular; a diferencia de Gutiérrez Nova. quienes utilizaron el Kit Biosource, el cual tiene aplicación en muestras de suero, plasma, soluciones buffer, orina y muestras de cultivo celular, mas no en saliva. Lo que explicaría la diferencia en los resultados de las investigaciones, lo que haría menos confiable sus

resultados obtenidos. Aunque esto puede deberse a que en el año en que se desarrollo dicha investigación, no se contaba con un kit de elisa con aplicación en saliva.

En este estudio, la concentración del FCE fue en aumento en relación directa al consumo de cigarrillos : desde el grupo del No Fumadores cuyo FCE fue de  $0.582 \pm 0.324$ , Fumador Leve fue  $0.857 \pm 0.320$  ng/ml, Fumador Moderado fue  $1.088 \pm 0.472$ ng/ml, y por último el grupo del Fumador Severo cuyo FCE fue de  $1.412 \pm 0.474$  ng/ml; demostrándose una diferencia estadísticamente significativa con una confiabilidad del 95%.

La importancia y justificación de esta investigación radica en este punto, al determinar la concentración del FCE, precisamente en pacientes Fumadores que cumplen con los criterios para la clasificación de fumadores que da la OMS, se observa que hay una relación entre el tabaquismo y la concentración de FCE en saliva, el cual se encuentra elevado en el grupo de pacientes fumadores con respecto al grupo de los no fumadores, de la misma manera este factor se encuentra también con niveles elevados en presencia de tumoraciones y neoplasias.

Estos resultados podrían indicar que el consumo de tabaco ocasiona que el FCE desempeñe su función de manera autocrina, esto produciría más factores de crecimiento, los cuales estimulan una activación de la proliferación celular continua, mediada por su propio receptor ubicada en la membrana citoplasmática o actuando de forma intracrina uniéndose a receptores localizados en el interior de la célula, es así que el Factor de Crecimiento Epidérmico(FCE) se sobre expresa en tumores<sup>62</sup>

### **Factor de Crecimiento Epidermal con respecto a la Edad**

Para determinar esta relación se trabajo en la muestra de no fumadores, desde el grupo etáreo de 18-31 años cuyo EGF fue de  $0.501 \pm 0,203$  ng/ml, el FCE del grupo etáreo de 32-45 años fue  $0.669 \pm 0,669$  ng/ml y el FCE del grupo etáreo de 46-60 años fue  $0,674 \pm 0,674$  ng/ml.

Si bien se observa que a mayor edad, hay un aumento de la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal,, estos resultados no son estadísticamente significativos según ANOVA ( $p=0,0259$ ).

Estos resultados obtenidos deben ser considerados como referentes en futuras investigaciones.

### **Factor de Crecimiento Epidermal y Tabaquismo en grupos etáreos**

#### **Grupo Etáreo 1: 18-31 años**

La concentración del FCE fue en aumento en relación directa al consumo de cigarrillos; desde el grupo de no fumadores cuyo FCE fue  $0,501\pm0,203\text{ng/ml}$ , FCE de fumador leve  $0,835\pm0,152\text{ng/ml}$ ; FCE de fumador moderado  $0,898\pm0,019\text{ng/ml}$  y FCE de fumador severo  $1,396\pm0,007\text{ng/ml}$

#### **Grupo Etáreo 2: 31-45 años**

No hubo relación directa entre la concentración del FCE y el consumo de cigarrillos; el FCE de los no fumadores fue  $0,669\pm0,387\text{ng/ml}$ ; FCE de fumadores leves fue  $1,313\pm0,313\text{ng/ml}$ ; FCE de fumadores moderados fue  $0,680\pm0,070\text{ng/ml}$  y el FCE para los fumadores severos fue  $1,920\pm0,050\text{ng/ml}$ .

#### **Grupo Etáreo 2: 46-60 años**

No hubo relación entre la concentración del FCE y el consumo de cigarrillos, el FCE de los no fumadores fue  $0,674\pm0,463\text{ng/ml}$ ; FCE de fumadores leves  $0,585\pm0,138\text{ng/ml}$ ; FCE de fumadores moderados  $1,408\pm0,478\text{ng/ml}$  y para los fumadores severos el FCE  $1,219\pm0,573\text{ng/ml}$

No se reporta estudios, que describan el comportamiento del factor de crecimiento epidermal con respecto al tabaquismo en grupos etáreos. En la presente investigación se distribuyó a los pacientes en 3 grupos como se observa párrafos más arriba.

Se observó que al mayor consumo de cigarrillos, hubo aumento de la concentración del FCE en el grupo de 18-31 años, este es un grupo etáreo en el cual se alcanza el pico máximo de desarrollo fisiológico y se logra una estabilidad entre los mecanismos de crecimiento y mecanismo de muerte; mientras que en los otros grupos etáreos no se ve un comportamiento claro del FCE con respecto al consumo de cigarrillos, esto haría pensar que existen otras variables que podrían haber influido tales como: cuadros clínicos, fisiológicos que son propios del aumento de la edad adulta, o netamente son propios del acto de fumar.

Estos resultados obtenidos deben ser considerados como referentes en futuras investigaciones.

### **Factor de Crecimiento Epidermal con respecto al Género**

Motoko I. y cols. . obtuvieron niveles de FCE de  $5.7 \pm 4.03$  ng/ml en hombres ( $n = 24$ ) y  $4.36 \pm 3.00$  ng/ml en mujeres ( $n = 46$ ) pero sin diferencia significativa en ambos grupos, En el presente estudio se obtuvieron resultados semejantes; para el género masculino ( $n=18$ ) resultó una concentración del Factor de crecimiento epidermal de  $0.890 \pm 0.485$  ng/ml y en el género femenino ( $n=22$ ) fue de  $0.710 \pm 0.405$  ng/ml sin ninguna diferencia significativa.

De la misma manera los resultados obtenidos concuerdan con los de Tunio, las concentraciones de FCE en la saliva no se ven afectados por el género.

## **VII. CONCLUSIONES**

- Si existe relación entre tabaquismo y concentración del Factor de Crecimiento Epidermal, a mayor grado de Tabaquismo se observó mayor concentración del FCE.
- La concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en el grupo de los no fumadores la media fue de 0.582ng/ml.
- La concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en el grupo de los fumadores leves la media fue 0.857ng/ml.
- La concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en el grupo de los fumadores moderados la media fue de 1.088ng/ml.
- La concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en el grupo de los fumadores severos la media fue de 1.412ng/ml.
- Se encontró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de los no fumadores y cada grupo de fumadores.
- No existe diferencia entre la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto a la edad.
- No existe diferencia en la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con respecto al género.

## **VIII. RECOMENDACIONES**

Es necesario continuar con este tipo de estudios para profundizar y optimizar resultados, para lo cual se recomienda:

Realizar investigaciones para determinar los valores del Factor de Crecimiento Epidermal en los diferentes grupos etáreos de personas no fumadoras.

Realizar investigaciones para determinar que otros factores se encuentran elevados o disminuidos en saliva de personas fumadoras.

Realizar investigaciones para determinar que componente producto de la combustión del cigarrillo altera las concentraciones del Factor de Crecimiento Epidermal.

Realizar investigaciones para determinar la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en muestras de Saliva Total Estimulada.

Realizar investigaciones para determinar la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal con muestras homogéneas y de mayor tamaño.

Realizar estudios para determinar la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal utilizando el ELISA Kit KHG0061 de la casa BIOSOURCE y AssayMax Human Epidermal Growth Factor ELISA Kit EE2011-1 de la casa ASSAYPRO para comparar sus resultados.

## **IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

1. Taleisnik Samuel. 2006. Receptor celular y la transducción de señales. Tema de Biología celular. 1° Edición. Editorial Encuentro. Argentina. 268(80-81)
2. Chimenos Kustner Eduardo y López López José. 2010. Esquemas de Medicina bucal. Textos Docents.360. Publicacions y Edicions de la Universitat de Barcelona. Facultat de Odontologia. España. 253(46-46)
3. Rothmann Carlos. 2001. Técnicas y consejos para dejar de fumar. 1° Edición. Editorial GIDESA. Argentina. 123(77-80)
4. Salomón Ricardo y Salomón María. Temas de Gastroenterología. Vol.I. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela. 505(94)
5. Análisis de la situación del Cáncer en el Perú, 2013. Ministerio de SALUD. Dirección General de Epidemiología
6. Mandel ID. The Functions of Saliva. J Dent Res 1987;feb 66 (Spec Iss): 623-7
7. Thesleff I, Viinikka L, Saxen L, Lehtonen E, Perheentupa J. The Parotid Gland is the Main Source of Human Salivary Epidermal Growth Factor. Life Sci 1988;43:13-18
8. M. McGurk, L Hanford, S. Justice y R. A. Metcalfe. The Secretory Characteristics of Epidermal Growth Factor in Human Saliva. Arch Oral Biol 1990;35(8):653-659.
9. Manccini DM, Veit BC. Salivary Epidermal Growth Factor in Patients With and Without Peptic Disease. Am J Gastroenterol 1990;Sep 85 (9):1102-4.
10. Motoko Ino<sup>1</sup>, Koichi Ushiro. Kinetics of Epidermal Growth Factor in Saliva .Acta Otoralyngol. 1993, Vol. 113, No. s500 , Pages 126-130



11. Tunio AM, Hobsley M, Epidermal Growth Factor in Saliva and Gastric Juice: Response to Histamine. Gut 1995; sept 37(3):335-9.
12. Konturek SJ, Bielansky W, Konturek JW, Olesky J, Yamazaki J. Release and Action of EGF on Gastric Secretion in Humans. Scand J Gastroenterol 1989; may 24(4):485-92.
13. Ma L, Wang WP, Chow JY, Yuen ST, Cho CH. Reduction of EGF is Associated With the Delay of Ulcer Healing by Cigarette Smoking. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000;278:G10-G17.
14. Gutiérrez Nova P, Olivares Navarrete R, Leyva Huerta ER. Factor de crecimiento epidermal y proteínas totales en saliva de fumadores y no fumadores. Av. Odontoestomatol 2008; 24 (6): 377-383.
15. MEDICINA. Buenos Aires Vol.53 Suplemento II- 1993. XXXVIII Reunión Científica SAIC Conferencia "Dra. E. Sacerdote de Lustig"
16. Taleisnik Samuel. 2010. Receptores Celulares y la Transducción de Señales. 2da. Edición. Córdoba. Encuentro Grupo Editor. 272(80-81)
17. M. Arce Víctor, F. Catalina Pablo, Mallo Federico. 2006. Endocrinología. Universidad de Vigo. 417(107-112)
18. Pedro A. Martínez-Carpio, Miguel A. Navarro Moreno: Factores de crecimiento, lesión celular, Proteincinasas dependiente de ciclinas y sus inhibidores: su relevancia en la patología molecular del cáncer humano. Medicina Clínica (Barc.) 2003; 120(7): 265-71.
19. Rabiña Ruvira, Enrique. 2008. Medicamentos un viaje a lo largo de la evolución histórica del descubrimiento de fármacos. Vol II. Universidad de Santiago de Compostela. 742(736-738)

20. Revista Médica Clínica Las Condes / vol. 12 nº1/Enero2011. Nuevas terapias en cáncer: Acción sobre la vía de transducción de señales, de una promesa a una realidad que se inicia. Dr Jorge Gutierrez
21. Vastardis Samuel. 2000. Receptores Celulares. 2ª Edición. Córdoba. Encuentro Grupo Editor. 272(81-83)
22. Enoch, S., Stephens, P. (2009). "Scarless healing: oral mucosa as scientific model." Wounds UK. 5(1): 42-48.
23. Enoch S, M. R., Stephens P, Thomas DW (2008). "The oral mucosa: a model of wound healing with reduced scarring." Oral Surgery 1(1): 11-21.
24. Longaker, M. T. (2000). Scarless Wound Healing. Charlestown, Massachusetts. Marcel Harvard Medical School at Massachusetts General Hospital Charlestown.
25. Gil Angel. 2010. Tratado de Nutrición. Tomo I. Segunda Edición. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Editorial Médica Panamericana. 965(63,64,65)
26. Fundamentos de ciencias básicas aplicadas a la Odontología. 2006. Pontificia Universidad Javeriana. 1ª Edición. Bogotá. 381(295).
27. J. Berlanga, E. Caballero, P. Prats, P. López Saura. R.J. Playford. Consideraciones acerca del papel del factor de crecimiento epidérmico en la protección celular y tisular. Med. Clínica. Sep 1999 Vol. 113 nº 6 pags 222 y ss.
28. Thesleff, I.; Viinikka, L.; Saxen, L.; Lehtonen, E.; Perheentupa, J. Parotid gland is the main source of human salivary epidermal growth factor. Life Sciences; v. 43(1) p. 13-18 1988

29. Ino M, Ushiro K, Yamashita T and Kumazawa T. kinetics of epidermal growth factor in saliva. Acta otolaryngology . 1993, Vol. 113, No. s500 , Pages 126-130.
30. Takenori Onaga; Yasuhito Shimizu; Hideaki Hayashi; Masayoshi Tsuji; Daiji Endoh; Hiroyuki Okada. Localization and secretion of epidermal growth factor in the parotid gland and its intragastric kinetics in sheep. Life Sciences. v.79, p1616-29, 2006.
31. Joh T et al Physiological concentrations of human epidermal growth factor in biological fluids: use of a sensitive enzyme immunoassay. Clin. Chim. Acta. Vol 158, n.1, p 81-90 , Jul 1986
32. Buscail L, Vernejoul F, Faure P et al. Regulation of cell proliferation by somatostatin. Ann Endocrinol (Paris) 2002; 63: 2S13-8.
33. Henry M. Williams. 2009. Tratado de ENDOCRINOLOGÍA. 11va EDICIÓN. Elsevier España. 1917 (50-51)
34. J. Berlanga, E. Caballero, P. Prats, P. López Saura. R.J. Playford. Consideraciones acerca del papel del factor de crecimiento epidérmico en la protección celular y tisular. Med. Clínica. Sep 1999 Vol. 113 nº 6 pags 222 y ss.
35. Lui VW yJR Grandis (2002). "EGFR-mediated cell cycle regulation." Anticancer Res 22(1A): 1-11.
36. Arteaga CL (2003). "ErbB-targeted therapeutic approaches in human cancer." Exp Cell Res
37. 284(1): 122-130.
38. Berlanga, E. Caballero, P. Prats, P. López Saura. R.J. Playford. Consideraciones acerca del papel del factor de crecimiento epidérmico en la

protección celular y tisular. Med. Clínica. Sep 1999 Vol. 113 nº 6 pags 222 y ss.

- 39.A. Molina Siguero, L. Sánchez Bliza. Mifepristona : mas que una píldora para el aborto médico. FMC. Vol. 1 Nº 1 1994
- 40.Harrison. Principios de Medicina Interna. 15ª Ed. En español. Cap.285. Úlcera péptica y trastornos relacionados. Págs. 1926 - 1946
- 41.PA Martínez-Carpio. El factor de crecimiento epidérmico cuarenta años después de su descubrimiento: de la bioquímica a la clínica. Endocrinología y nutrición. Vol. 50 nº8, p.334-344.
- 42.Sánchez Ortega Ana. Técnicas médicas de uso habitual en Medicina Estética. Factores de crecimiento. Curso de habilidades en Medicina estética facial. Cap. 7.D3, pags.199-207.
- 43.J. Villanueva, P, Tejero. Porqué Factor de Crecimiento y mesoterapia. Revista de la Sociedad Española de Medicina Estética nº 51 Junio 2001 pag. 39-40.
- 44.Pedro A. Prats, Lázaro O Castañeda, Viviana Falcón, Rafael Ortega. Efecto del factor de crecimiento sobre la regeneración del nervio ciático transectado en ratas. Biotecnología aplicada. 1998, 15:237-241.
- 45.Chow JY, Carlstrom K, Barrett KE. Growth hormone reduces chloride secretion in human colonic epithelial cells via EGF receptor and extracellular regulated kinase. Gastroenterology 2003; 125: 1114-24.
- 46.Enoch S, M. R., Stephens P, Thomas DW (2008). "The oral mucosa: a model of wound healing with reduced scarring." Oral Surgery 1(1): 11-21.
- 47.Acción Legislativa contra la Epidemia Mundial del Tabaquismo. WHO, Ginebra, 1995.

48. SEEPAR Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. 2002. Manual de Tabaquismo. 2da. Edición. Editorial MASSON Pag (1-2)
49. Elizondo. 2005. Principios básicos de salud. 1ra parte. Editorial Limusa. Pag 57
50. Tabaquismo. Programa para dejar de fumar. 2003. 2da. Edición. España. Ediciones Díaz de Santos S.A. 263(20-21)
51. SEEPAR Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. 2002. Manual de Tabaquismo. 2da. Edición. Editorial MASSON Pag 185
52. Martínez Ruiz Mario. Manual de Drogodependencias para enfermería. 2002. Editorial Díaz de Santos. (185)
53. Tabaquismo. Programa para dejar de fumar. 2003. 2da. Edición. España. Ediciones Díaz de Santos S.A. 263(21-23)
54. Hernandez Eduardo. Clínica del Tabaco. Desarraigo del Tabaquismo & prevención del abuso de alcohol y uso de sustancias. 2011. 1ra Edición. Mexico.
55. Elizondo. 2005. Principios básicos de salud. 1ra parte. Editorial Limusa. Pag 58
56. Silverman ser, Edward J. Shillitoe ETIOLOGY AND PREDISPOSING ACTORS. ORAL CANCER; 2 edición 1985; 7-12.
57. Kumar Abbas Fausto Mitchell. 2008. Robbins Patología Humana. octava edición. Elsevier España. 998(297).
58. Navalo Vila, Carlos. 2008. CIRUGIA ORAL. Capítulo 32. Cáncer de cavidad oral: generalidades y diagnóstico precoz. 627( 531)
59. Santana J. 2010. Atlas de Patología del complejo bucal. 2da. Edición. Cuba.

60. Especial de Tabaco 2010 - Ministerio de Salud del Perú  
<http://www.minsa.gob.pe/portada/Especiales/2010/tabaco/default.asp>
61. Amorín E. Tabaquismo en el INEN. Bol INEN 2004; 26(2):29-33.
62. Análisis de la situación del Cáncer en el Perú, 2013. Ministerio de SALUD.  
Dirección General de Epidemiología
63. Suárez C. Ortega P. Trinidad J.(2007). Tratado de Otorrinolaringología y cirugía de Cabeza y Cuello. 2da. Edición . Tomo I. Editorial Médica Panamericana. 839(251-252)

## X. ANEXOS

### Anexo 1: Cuadros de Consistencia

FCE con respecto al Tabaquismo

Prueba de Kruskal Wallis entre los grupos de no fumador, fumador leve, moderado, severo

Pruebas de normalidad							
	Hábito de fumar	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
FCE ng/ml	no fuma	.161	40	.010	.936	40	.025
	fumador leve	.181	19	.101	.906	19	.063
	fumador moderado	.272	10	.035	.846	10	.053
	fumador severo	.209	10	.200 <sup>*</sup>	.940	10	.552

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

### PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS

Rangos			
	Hábito de fumar	N	Rango promedio
FCE ng/ml	no fuma	40	27.64
	fumador leve	19	44.87
	fumador moderado	10	54.90
	fumador severo	10	65.30
	Total	79	

Estadísticos de prueba <sup>a,b</sup>	
	FCE ng/ml
Chi-cuadrado	28.833
Gl	3
Sig. asintótica	.000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación:

Hábito de fumar

## FCE con respecto a la Edad

### Pruebas de normalidad

	Edad	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
EGF	18-31 años	,134	21	,200 <sup>*</sup>	,978	21	,894
	32-45 años	,197	11	,200 <sup>*</sup>	,887	11	,127
	46-60 años	,240	8	,197	,829	8	,059

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

### ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,289	2	,145	1,402	,259
Intra-grupos	3,818	37	,103		
Total	4,108	39			

## FCE y Tabaquismo con respecto a grupos etáreos

Grupo etáreo 1: 18-31 años

### Pruebas de normalidad

	Tabaquismo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Factor de Crecimiento epidermal	No fumador	,134	21	,200 <sup>*</sup>	,978	21	,894
	Fumador leve	,246	9	,122	,880	9	,157
	Fumador moderado	,260	2	.			
	Fumador severo	,292	3	.	,923	3	,463

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors



### ANOVA de un factor 18-31

Factor de Crecimiento epidermal

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,523	3	,841	25,889	,000
Intra-grupos	1,007	31	,032		
Total	3,530	34			

Grupo etéreo 2: 32-45 años

### Pruebas de normalidad

	Tabaquismo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Factor de Crecimiento epidermal	No fumador	,197	11	,200 <sup>+</sup>	,887	11	,127
	Fumador leve	,294	4	.	,835	4	,180
	Fumador moderado	,326	3	.	,873	3	,305
	Fumador severo	,260	2	.			

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

### ANOVA de un factor 32-45 años

Factor de Crecimiento epidermal

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3,481	3	1,160	10,306	,001
Intra-grupos	1,801	16	,113		
Total	5,282	19			

Grupo etéreo 3: 46-60 años

**Pruebas de normalidad**

	Tabaquismo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Factor de Crecimiento epidermal	No fumador	,240	8	,197	,829	8	,059
	Fumador leve	,176	6	,200 <sup>*</sup>	,926	6	,547
	Fumador moderado	,326	5	,088	,818	5	,112
	Fumador severo	,237	5	,200 <sup>*</sup>	,963	5	,829

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

**ANOVA de un factor 46-60 años**

Factor de Crecimiento epidermal

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,796	3	,932	4,874	,011
Intra-grupos	3,824	20	,191		
Total	6,620	23			

Al comparar entre los grupos de fumadores no se encuentra diferencia entre las edades de fumadores leves, moderados y severos

**Rangos**

Hábito de fumar	N	Rango promedio
fumador leve	19	18.37
fumador moderado	10	23.90
fumador severo	10	19.20
Total	39	

**Estadísticos de**

**prueba<sup>a,b</sup>**

	Edad
Chi-cuadrado	1.621
Gl	2
Sig. asintótica	0.445

a. Prueba de Kruskal

Wallis

b. Variable de agrupación:

Hábito de fumar

## Género

### Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	17,020 <sup>a</sup>	3	,001
Razón de verosimilitudes	23,139	3	,000
Asociación lineal por lineal	3,322	1	,068
N de casos válidos	79		

a. 2 casillas (25,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 3,67.

Prueba U de Mann Whitney para comparar la concentración del FCE entre hombres y mujeres

### Rangos

	Género	N	Rango promedio	Suma de rangos
Factor de Crecimiento epidermal	Masculino	18	21,25	382,50
	Femenino	22	19,89	437,50
	Total	40		

### Estadísticos de contraste<sup>a</sup>

	Factor de Crecimiento epidermal
U de Mann-Whitney	184,500
W de Wilcoxon	437,500
Z	-,367
Sig. asintót. (bilateral)	,714
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,717 <sup>b</sup>

a. Variable de agrupación: Género

b. No corregidos para los empates.

## **Anexo 2: Consentimiento Informado**

### **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



### **TABAQUISMO Y CONCENTRACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL EN SALIVA**

#### **INFORMACIÓN DEL ESTUDIO**

**Título:** “Tabaquismo y Concentración Del Factor De Crecimiento Epidermal en saliva”

**Instituciones:** Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

**Investigador:** Ronel Spencer Barrios Felices (Bachiller en Odontología UNMSM; Telf: 990650387) Estoy realizando un trabajo de investigación sobre la importancia del Factor de Crecimiento Epidermal presente en la saliva y su relación con el Tabaquismo para la detección temprana de cáncer oral en pacientes de 18 - 60 años de edad; para lo cual le realizaré un examen dental explicándole los tratamientos que Ud. necesite, así como una recolección de su saliva, ). La cual coleccionará en piso de boca y vertida dentro de un taper colector estéril de muestras biológicas graduado de 100ml, cada 60 segundos, durante 5 minutos.

**Confidencialidad;** la ficha de datos en la cual se identifica a usted y el consentimiento informado que firmara serán revisados por el investigador e inspeccionados por los profesionales que asesoran el presente estudio. Los resultados de esta investigación podrán presentarse para su exposición, sin embargo, su identidad no será divulgada en tales presentaciones.

Esto, no le causará ningún daño físico ni psicológico y, por el contrario le permitirá tener conocimiento de su estado y cuidado buco-dental. Este trabajo ha sido evaluado por un grupo de expertos que velan por los derechos de quienes participan en una investigación. Ante

cualquier molestia o incomodidad Ud. podrá comunicarse al siguiente número telefónico 619 - 7000 de la Facultad de Odontología.

Atentamente:

.....  
Barrios Felices, Ronel Spencer  
Bachiller en odontología

### **AUTORIZACIÓN**

Yo:..... con número de DNI:....., acepto de manera libre, voluntaria y sin presión a participar del Trabajo de Investigación: “Tabaquismo y Concentración Del Factor de Crecimiento Epidermal en saliva”, que está realizando el Bachiller en Odontología: Barrios Felices, Ronel Spencer en el Hospital Santa Rosa; para lo cual me realizará un examen dental y una recolección de saliva durante 5 minutos; procedimientos que me han sido explicados anteriormente de manera clara y detallada. Además, se me ha informado que si en caso de no aceptar participar, no habrá ningún cambio en el trato que se me dará en el servicio. En caso de duda, o si piense que mis derechos como persona o como paciente están siendo lastimados sé que puedo comunicarme al siguiente número telefónico 619 -7000 de la Facultad de Odontología.

***Firma Testigo.....Fecha:    /    /***

### Anexo 3: Instrumento de Recolección

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



## **TABAQUISMO Y CONCENTRACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL EN SALIVA**

### **FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

#### **1. DATOS DE PACIENTE:**

Nombre:

\_\_\_\_\_

Nº Historia

Clínica \_\_\_\_\_ Género \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_

Lugar de Nacimiento: \_\_\_\_\_ Fecha:

\_\_\_\_\_

#### **1.- HÁBITOS**

**Tabaco** - SI - NO

**Cuantos cigarrillos fuma diariamente?**

- a.- Fumador Leve 0 - 5 cigarrillos diarios
- b.- Fumador Moderado 6-15 cigarrillos diarios
- c.- Fumador Severo 16a más cigarrillos diarios

**Que tipo de cigarrillo fuma?-----**

**Desde hace cuanto tiempo fuma?'-----**

#### **2.- CONCENTRACION DE FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL - FCE:**

\_\_\_\_\_ ng/ml

#### Anexo 4: Fotografías

### Tabaquismo y la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en Saliva

#### PROCEDIMIENTO

. Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la UNMSM

##### 1. Mesa de Trabajo



## 2.- Información del Estudio, Consentimiento Informado y Recolección de Datos



## 3.- Indicaciones al Paciente.





#### 4.- Recolección de Saliva



#### 5.- Rotulado



**6.- Almacenamiento de la muestra, para el transporte al laboratorio**



**7.- Mesa de Trabajo en el Laboratorio del Instituto de Medicina Tropical**



## 8.- Transporte de la muestra con pipetas Pasteur descartables a los tubos de ensayo



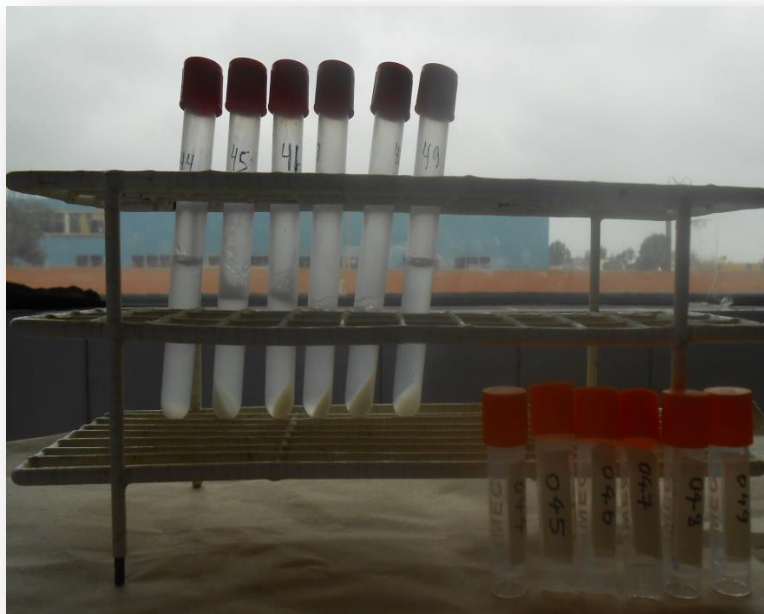
## 9.- Centrífuga Labofuge 200



**10.- Centrifugado de las muestras a 6000 rpm durante 10 minutos**

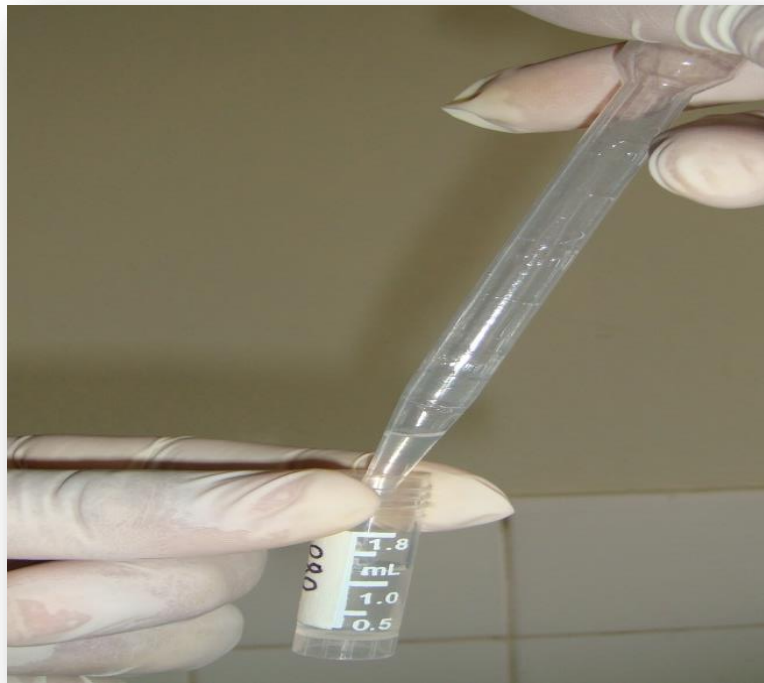


**11.- Sobrenadante y sedimento**

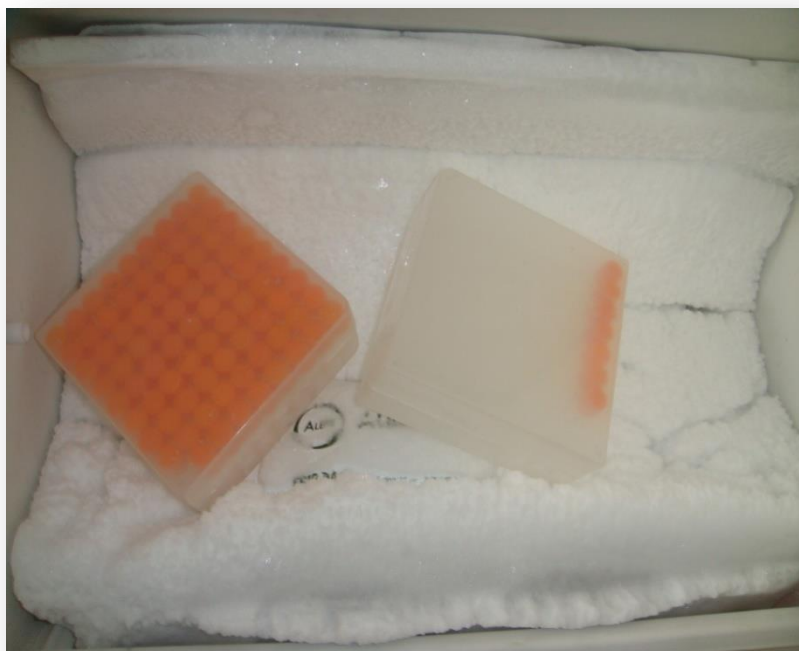




**12.- Extracción del sobrenadante y transporte a los criotubos para su almacenamiento**



**13.- Almacenamiento de la muestra a -20°C durante la fase de recolección.**



#### 14.- Assay Max Human Epidermal Growth Factor ELISAKit EE2011-1



15.- Se añade 50 ul de solución estándar por pocillo.



**16.- Se incuba 2 horas**



**17.- Se lava con la solución de lavado, utilizando una pipeta multicanalada.**





**18.-Secado, se elimina los restos golpeando contra papel toalla y se repite 5 veces.**



**19.- Nuevamente se incuba durante 30 minutos.**

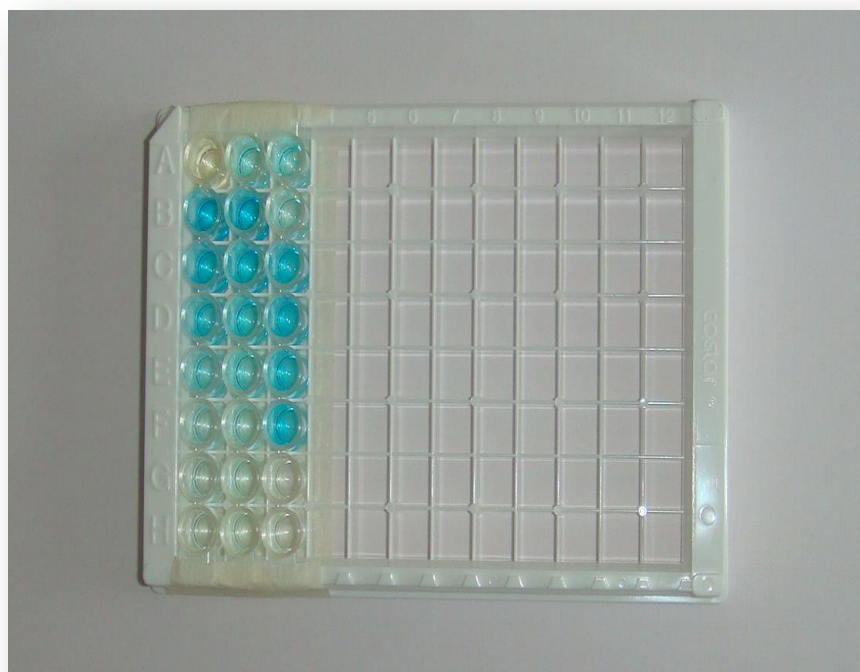




**20.- Se añade 50ul del sustrato cromógeno por pocillo.**



**21.- Se incuba 15 minutos a temperatura ambiente y empieza la reacción, nótese el cambio de color.**



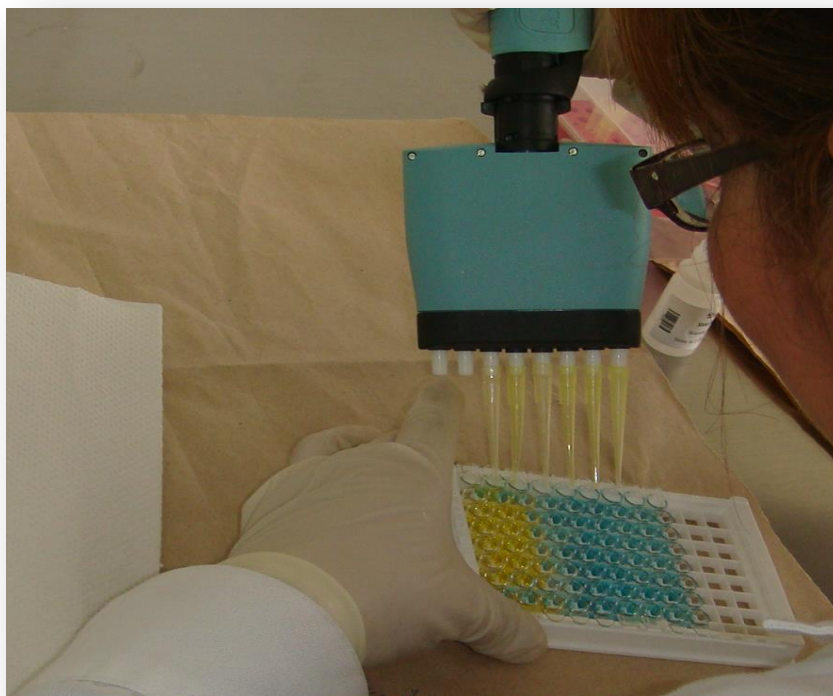
**22.- Se detiene la reacción, aplicando la solución de parada.**



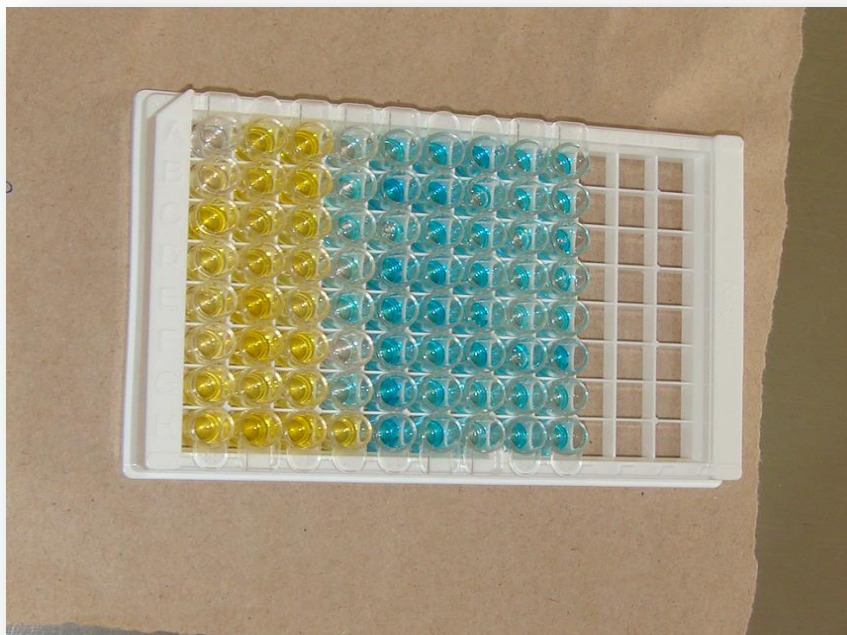
**23.- Una vez calibrada la solución estandar se repite el Procedimiento para las muestras restantes.**



## 24.- Aplicación de la solución de parada.



## 25.- Nótese el cambio de coloración que indica la detención de la reacción.





## 26.-Espectrofotómetro Biotek



## 27.-Se realiza la lectura a 450nm de absorvancia



## Servicio de Diagnóstico Facultad de Odontología de UNMSM



- 
- <sup>1</sup> Taleisnik Samuel. 2006. Receptor celular y la transducción de señales. Tema de Biología celular. 1° Edición. Editorial Encuentro. Argentina. 268(80-81)
- <sup>2</sup> Chimenos Kustner Eduardo y López López José. 2010. Esquemas de Medicina bucal. Textos Docents.360. Publicacions y Edicions de la Universitat de Barcelona. Facultad de Odontología. España. 253(46-46)
- <sup>3</sup> Rothmann Carlos. 2001. Técnicas y consejos para dejar de fumar. 1° Edición. Editorial GIDESA. Argentina. 123(77-80)
- <sup>4</sup> Salomón Ricardo y Salomón María. Temas de Gastroenterología. Vol.I. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela. 505(94)
- <sup>5</sup> Análisis de la situación del Cáncer en el Perú, 2013. Ministerio de SALUD. Dirección General de Epidemiología
- <sup>6</sup> Mandel ID. The Functions of Saliva. J Dent Res 1987;feb 66 (Spec Iss): 623-7
- <sup>7</sup> Thesleff I, Viinikka L, Saxen L, Lehtonen E, Perheentupa J. The Parotid Gland is the Main Source of Human Salivary Epidermal Growth Factor. Life Sci 1988;43:13-18
- <sup>8</sup> M. McGurk, L Hanford, S. Justice y R. A. Metcalfe. The Secretory Characteristics of Epidermal Growth Factor in Human Saliva. Arch Oral Biol 1990;35(8):653-659.
- <sup>9</sup> Manccini DM, Veit BC. Salivary Epidermal Growth Factor in Patients With and Without Peptic Disease. Am J Gastroenterol 1990;Sep 85 (9):1102-4.
- <sup>10</sup> Motoko Ino1, Koichi Ushiro. Kinetics of Epidermal Growth Factor in Saliva .Acta Otoralyngol. 1993, Vol. 113, No. s500 , Pages 126-130
- <sup>11</sup> Tunio AM, Hobsley M, Epidermal Growth Factor in Saliva and Gastric Juice: Response to Histamine.Gut 1995; sept 37(3):335-9.
- <sup>12</sup> Konturek SJ, Bielansky W, Konturek JW, Olesky J, Yamazaki J. Release and Action of EGF on Gastric Secretion in Humans. Scand J Gastroenterol 1989; may 24(4):485-92.

- 
- <sup>13</sup> Ma L, Wang WP, Chow JY, Yuen ST, Cho CH. Reduction of EGF is Associated With the Delay of Ulcer Healing by Cigarette Smoking. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;278:G10-G17.
- <sup>14</sup> Gutiérrez Nova P, Olivares Navarrete R, Leyva Huerta ER. Factor de crecimiento epidermal y proteínas totales en saliva de fumadores y no fumadores. *Av. Odontoestomatol* 2008; 24 (6): 377-383.
- <sup>15</sup> MEDICINA. Buenos Aires Vol.53 Suplemento II- 1993. XXXVIII Reunión Científica SAIC Conferencia "Dra. E. Sacerdote de Lustig"
- <sup>16</sup> Taleisnik Samuel. 2006. Receptores Celulares y la Transducción de Señales.1ra. Edición. Córdoba. Encuentro Grupo Editor.272(80-81)
- <sup>17</sup> M. Arce Víctor, F. Catalina Pablo, Mallo Federico.2006. Endocrinología. Universidad de Vigo. 417(107-112)
- <sup>18</sup> Pedro A. Martínez-Carpio, Miguel A. Navarro Moreno: Factores de crecimiento, lesión celular, Proteincinasas dependiente de ciclinas y sus inhibidores: su relevancia en la patología molecular del cáncer humano. *Medicina Clínica (Barc.)* 2003; 120(7): 265-71.
- <sup>19</sup> Rabiña Ruvira, Enrique. 2008. Medicamentos un viaje a lo largo de la evolución histórica del descubrimiento de fármacos.Vol II. Universidad de Santiago de Compostela.742(736-738)
- <sup>20</sup> Revista Médica Clínica Las Condes / vol. 12 nº1/Enero2011. Nuevas terapias en cáncer: Acción sobre la vía de transducción de señales, de una promesa a una realidad que se inicia. Dr Jorge Gutierrez
- <sup>21</sup> Taleisnik Samuel. 2006. Receptores Celulares y la Transducción de Señales.1ra. Edición. Córdoba. Encuentro Grupo Editor.272(81-83)
- <sup>22</sup> Enoch, S., Stephens ,P. (2009). "Scarless healing: oral mucosa as scientific model." *Wounds UK*. 5(1): 42-48.
- <sup>23</sup> Enoch S, M. R., Stephens P, Thomas DW (2008). "The oral mucosa: a model of wound healing with reduced scarring." *Oral Surgery* 1(1): 11-21.

- 
- <sup>24</sup> Longaker, M. T. (2000). Scarless Wound Healing. Charlestown, Massachusetts. Marcel Harvard Medical School at Massachusetts General Hospital Charlestown.
- <sup>25</sup> Gil Angel.2010.Tratado de Nutrición. Tomo I. Segunda Edición. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Editorial Médica Panamericana.965(63,64,65)
- <sup>26</sup> Fundamentos de ciencias básicas aplicadas a la Odontología.2006. Pontificia Universidad Javeriana. 1ra. Edición. Bogotá. 381(295).
- <sup>27</sup> J. Berlanga, E. Caballero, P. Prats, P. López Saura. R.J. Playford. Consideraciones acerca del papel del factor de crecimiento epidérmico en la protección celular y tisular. Med. Clínica. Sep 1999 Vol. 113 nº 6 pags 222 y ss.
- <sup>28</sup> Thesleff, I.; Viinikka, L.; Saxen, L.; Lehtonen, E.; Perheentupa, J. Parotid gland is the main source of human salivary epidermal growth factor. Life Sciences; v. 43(1) p. 13-18 1988
- <sup>29</sup> Ino M, Ushiro K, Yamashita T and Kumazawa T. kinetics of epidermal growth factor in saliva. Acta otolaryngology . 1993, Vol. 113, No. s500 , Pages 126-130.
- 30 Takenori Onaga; Yasuhito Shimizu; Hideaki Hayashi; Masayoshi Tsuji; Daiji Endoh; Hiroyuki Okada. Localization and secretion of epidermal growth factor in the parotid gland and its intragastric kinetics in sheep.Life Sciences.v.79,p1616-29,2006.**
- I. 31 Joh T et al Physiological concentrations of human epidermal growth factor in biological fluids: use of a sensitive enzyme immunoassay. Clin. Chim. Acta. Vol 158, n.1, p 81-90 ,Jul 1986**
- <sup>32</sup> Buscail L, Vernejoul F, Faure P et al. Regulation of cell proliferation by somatostatin. Ann Endocrinol (Paris) 2002; 63: 2S13-8.
- <sup>33</sup> Henry M. Williams.2009. Tratado de ENDOCRINOLOGÍA. 11va EDICIÓN. Elsevier España. 1917 (50-51)
- <sup>34</sup> J. Berlanga, E. Caballero, P. Prats, P. López Saura. R.J. Playford. Consideraciones acerca del papel del factor de crecimiento epidérmico en la protección celular y tisular. Med. Clínica. Sep 1999 Vol. 113 nº 6 pags 222 y ss.



- 
- <sup>35</sup> Lui VW yJR Grandis (2002). "EGFR-mediated cell cycle regulation." *Anticancer Res* 22(1A): 1-11.
- <sup>36</sup> Arteaga CL (2003). "ErbB-targeted therapeutic approaches in human cancer." *Exp Cell Res* 284(1): 122-130.
- <sup>37</sup> . Berlanga, E. Caballero, P. Prats, P. López Saura. R.J. Playford. Consideraciones acerca del papel del factor de crecimiento epidérmico en la protección celular y tisular. *Med. Clínica*. Sep 1999 Vol. 113 nº 6 pags 222 y ss.
- <sup>38</sup> A. Molina Sigüero, L. Sánchez Bliza. Mifepristona : mas que una píldora para el aborto médico. *FMC*. Vol. 1 Nº 1 1994
- <sup>39</sup> Harrison . *Principios de Medicina Interna*. 15ª Ed. En español. Cap.285. Úlcera péptica y trastornos relacionados. Págs. 1926 - 1946
- <sup>40</sup> PA Martínez-Carpio. El factor de crecimiento epidérmico cuarenta años después de su descubrimiento: de la bioquímica a la clínica. *Endocrinología y nutrición*. Vol. 50 nº8, p.334-344.
- <sup>41</sup> Sánchez Ortega Ana. Técnicas médicas de uso habitual en Medicina Estética. Factores de crecimiento. *Curso de habilidades en Medicina estética facial*. Cap. 7.D3, pags.199-207.
- <sup>42</sup> J. Villanueva, P, Tejero. Porqué Factor de Crecimiento y mesoterapia. *Revista de la Sociedad Española de Medicina Estética* nº 51 Junio 2001 pag. 39-40.
- <sup>43</sup> Pedro A. Prats, Lázaro O Castañeda, Viviana Falcón, Rafael Ortega. Efecto del factor de crecimiento sobre la regeneración del nervio ciático transectado en ratas. *Biotechnología aplicada*. 1998, 15:237-241.
- <sup>44</sup> Chow JY, Carlstrom K, Barrett KE. Growth hormone reduces chloride secretion in human colonic epithelial cells via EGF receptor and extracellular regulated kinase. *Gastroenterology* 2003; 125: 1114-24.
- <sup>45</sup> Enoch S, M. R., Stephens P, Thomas DW (2008). "The oral mucosa: a model of wound healing with reduced scarring." *Oral Surgery* 1(1): 11-21.
- <sup>46</sup> *Acción Legislativa contra la Epidemia Mundial del Tabaquismo*. WHO, Ginebra, 1995.

- 
- <sup>47</sup>SEEPAR Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. 2002. Manual de Tabaquismo. 2da.Edición. Editorial MASSON Pag (1-2)
- <sup>48</sup> Elizondo. 2005. Principios básicos de salud. 1ra parte. Editorial Limusa. Pag 57
- <sup>49</sup> Tabaquismo. Programa para dejar de fumar. 2003. 2da. Edición. España. Ediciones Díaz de Santos S.A.263(20-21)
- <sup>50</sup> SEEPAR Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. 2002. Manual de Tabaquismo. 2da.Edición. Editorial MASSON Pag 185
- <sup>51</sup> Martínez Ruiz Mario. Manual de Drogodependencias para enfermería.2002. Editorial Díaz de Santos.(185)
- <sup>52</sup> Tabaquismo. Programa para dejar de fumar. 2003. 2da. Edición. España. Ediciones Díaz de Santos S.A.263(21 23)
- <sup>53</sup> Hernandez Eduardo. Clínica del Tabaco. Desarraigo del Tabaquismo & prevención del abuso de alcohol y uso de sustancias. 2011. 1ra Edición. Mexico.
- <sup>54</sup> Elizondo. 2005. Principios básicos de salud. 1ra parte. Editorial Limusa. Pag 58
- <sup>55</sup> Silverman ser, Edward J. Shillitoe ETIOLOGY AND PREDISPOSING ACTORS. ORAL CANCER; 2 edición 1985; 7-12.
- <sup>56</sup> Kumar Abbas Fausto Mitchell. 2008. Robbins Patología Humana. octava edición. Elsevier España. 998(297).
- <sup>57</sup>Navalo Vila, Carlos.2008. CIRUGIA ORAL.Capítulo 32. Cáncer de cavidad oral: generalidades y diagnóstico precoz. 627( 531)
- <sup>58</sup> Santana J. 2010. Atlas de Patología del complejo bucal. 2da. Edición. Cuba.

**<sup>59</sup>Especial de Tabaco 2010 - Ministerio de Salud del Perú**  
**<http://www.minsa.gob.pe/portada/Especiales/2010/tabaco/default.asp>**

- <sup>60</sup> Amorín E. Tabaquismo en el INEN. Bol INEN 2004; 26(2):29-33.

<sup>61</sup> Análisis de la situación del Cáncer en el Perú, 2013. Ministerio de SALUD. Dirección General de Epidemiología

<sup>62</sup> Suárez C. Ortega P. Trinidad J.(2007). Tratado de Otorrinolaringología y cirugía de Cabeza y Cuello. 2da. Edición . Tomo I. Editorial Médica Panamericana. 839(251-252)

## ANEXOS

Cuadro de Consistencia

EGF con respecto al Tabaquismo

Prueba de Kruskal Wallis entre los grupos de no fumador, fumador leve, moderado, severo

Pruebas de normalidad							
	Hábito de fumar	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
FCE ng/ml	no fuma	.161	40	.010	.936	40	.025
	fumador leve	.181	19	.101	.906	19	.063
	fumador moderado	.272	10	.035	.846	10	.053
	fumador severo	.209	10	.200 <sup>*</sup>	.940	10	.552

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

## PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS

Rangos			
	Hábito de fumar	N	Rango promedio
FCE ng/ml	no fuma	40	27.64
	fumador leve	19	44.87

fumador moderado	10	54.90
fumador severo	10	65.30
Total	79	

#### Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup>

	FCE ng/ml
Chi-cuadrado	28.833
Gl	3
Sig. asintótica	.000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación:

Hábito de fumar

EGF con respecto a la Edad

#### Pruebas de normalidad

	Edad	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
EGF	18-31 años	,134	21	,200 <sup>*</sup>	,978	21	,894
	32-45 años	,197	11	,200 <sup>*</sup>	,887	11	,127
	46-60 años	,240	8	,197	,829	8	,059

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

#### ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,289	2	,145	1,402	,259
Intra-grupos	3,818	37	,103		
Total	4,108	39			

EGF y Tabaquismo con respecto a grupos etáreos

Grupo etáreo 1: 18-31 años

Pruebas de normalidad							
	Tabaquismo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Factor de Crecimiento epidermal	No fumador	,134	21	,200*	,978	21	,894
	Fumador leve	,246	9	,122	,880	9	,157
	Fumador moderado	,260	2	.			
	Fumador severo	,292	3	.	,923	3	,463

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

#### ANOVA de un factor 18-31

Factor de Crecimiento epidermal

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,523	3	,841	25,889	,000
Intra-grupos	1,007	31	,032		
Total	3,530	34			

Grupo etáreo 2: 32-45 años

Pruebas de normalidad							
	Tabaquismo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Factor de Crecimiento epidermal	No fumador	,197	11	,200*	,887	11	,127
	Fumador leve	,294	4	.	,835	4	,180
	Fumador moderado	,326	3	.	,873	3	,305
	Fumador severo	,260	2	.			

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

#### ANOVA de un factor 32-45 años

Factor de Crecimiento epidermal

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.

Inter-grupos	3,481	3	1,160	10,306	,001
Intra-grupos	1,801	16	,113		
Total	5,282	19			

Grupo etáreo 3: 46-60 años

**Pruebas de normalidad**

	Tabaquismo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Factor de Crecimiento epidermal	No fumador	,240	8	,197	,829	8	,059
	Fumador leve	,176	6	,200 <sup>*</sup>	,926	6	,547
	Fumador moderado	,326	5	,088	,818	5	,112
	Fumador severo	,237	5	,200 <sup>*</sup>	,963	5	,829

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

**ANOVA de un factor 46-60 años**

Factor de Crecimiento epidermal

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,796	3	,932	4,874	,011
Intra-grupos	3,824	20	,191		
Total	6,620	23			

Al comparar entre los grupos de fumadores no se encuentra diferencia entre las edades de fumadores leves, moderados y severos

**Rangos**

Hábito de fumar	N	Rango promedio
fumador leve	19	18.37
fumador moderado	10	23.90
fumador severo	10	19.20
Total	39	

**Estadísticos de  
prueba<sup>a,b</sup>**

	Edad
Chi-cuadrado	1.621
Gl	2
Sig. asintótica	0.445

a. Prueba de Kruskal

Wallis

b. Variable de agrupación:

Hábito de fumar

**Género**

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	17,020 <sup>a</sup>	3	,001
Razón de verosimilitudes	23,139	3	,000
Asociación lineal por lineal	3,322	1	,068
N de casos válidos	79		

a. 2 casillas (25,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 3,67.

Prueba U de Mann Whitney para comparar la concentración del FCE entre hombres y mujeres

**Rangos**

	Género	N	Rango promedio	Suma de rangos
Factor de Crecimiento epidermal	Masculino	18	21,25	382,50
	Femenino	22	19,89	437,50
	Total	40		

**Estadísticos de contraste<sup>a</sup>**

	Factor de Crecimiento epidermal
U de Mann-Whitney	184,500

---

W de Wilcoxon	437,500
Z	-,367
Sig. asintót. (bilateral)	,714
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,717 <sup>b</sup>

a. Variable de agrupación: Género

b. No corregidos para los empates.

- Instrumentos de Recolección

## UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS



### FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

## TABAQUISMO Y CONCENTRACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL EN SALIVA

### INFORMACIÓN DEL ESTUDIO

**Título:** "Tabaquismo y Concentración Del Factor De Crecimiento Epidermal en saliva"



---

**Instituciones:** Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

**Investigador:** Ronel Spencer Barrios Felices (Bachiller en Odontología UNMSM; Telf: 990650387) Estoy realizando un trabajo de investigación sobre la importancia del Factor de Crecimiento Epidermal presente en la saliva y su relación con el Tabaquismo para la detección temprana de cáncer oral en pacientes de 18 - 60 años de edad; para lo cual le realizaré un examen dental explicándole los tratamientos que Ud. necesite, así como una recolección de su saliva, ). La cual coleccionará en piso de boca y vertida dentro de un taper colector estéril de muestras biológicas graduado de 100ml, cada 60 segundos, durante 5 minutos.

**Confidencialidad:** la ficha de datos en la cual se identifica a usted y el consentimiento informado que firmara serán revisados por el investigador e inspeccionados por los profesionales que asesoran el presente estudio. Los resultados de esta investigación podrán presentarse para su exposición, sin embargo, su identidad no será divulgada en tales presentaciones.

Esto, no le causará ningún daño físico ni psicológico y, por el contrario le permitirá tener conocimiento de su estado y cuidado buco-dental. Este trabajo ha sido evaluado por un grupo de expertos que velan por los derechos de quienes participan en una investigación. Ante cualquier molestia o incomodidad Ud. podrá comunicarse al siguiente número telefónico 619 - 7000 de la Facultad de Odontología.

Atentamente:

.....

Barrios Felices, Ronel Spencer  
Bachiller en odontología

### **AUTORIZACIÓN**

Yo:..... con número de DNI:....., acepto de manera libre, voluntaria y sin presión a participar del Trabajo de Investigación: "Tabaquismo

---

y Concentración Del Factor de Crecimiento Epidermal en saliva", que está realizando el Bachiller en Odontología: Barrios Felices, Ronel Spencer en el Hospital Santa Rosa; para lo cual me realizará un examen dental y una recolección de saliva durante 5 minutos; procedimientos que me han sido explicados anteriormente de manera clara y detallada. Además, se me ha informado que si en caso de no aceptar participar, no habrá ningún cambio en el trato que se me dará en el servicio. En caso de duda, o si piense que mis derechos como persona o como paciente están siendo lastimados sé que puedo comunicarme al siguiente número telefónico 619 -7000 de la Facultad de Odontología.

*Firma Testigo.....Fecha:    /    /*



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN  
MARCOS  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**TABAQUISMO Y CONCENTRACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO  
EPIDERMAL EN SALIVA**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**1. DATOS DE PACIENTE:**

Nombre:

---

Clínica	Género	Edad
---------	--------	------

## 1.- HÁBITOS

**Tabaco**            - SI                            - NO

## Cuántos cigarrillos fuma diariamente?

a.- Fumador Leve 0 - 5 cigarrillos diarios

b.- Fumador Moderado 6-15 cigarrillos diarios

c.- Fumador Severo 16a más cigarrillos diarios

**Que tipo de cigarrillo fuma?-----**

**Desde hace cuanto tiempo fuma?'-----**

## 2.- CONCENTRACION DE FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL - EGF:

\_\_\_\_\_ ng/ml

- Cuadros y graficos

## Tabaquismo y la concentración del Factor de Crecimiento Epidermal en Saliva

## PROCEDIMIENTO

**. Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la UNMSM**

## 1. Mesa de Trabajo



## **2.- Información del Estudio, Consentimiento Informado y Recolección de Datos**



**3.- Indicaciones al Paciente.**



**4.- Recolección de Saliva**



### **5.- Rotulado**



### **6.- Almacenamiento de la muestra, para el transporte al laboratorio**



**7.- Mesa de Trabajo en el Laboratorio del Instituto de Medicina Tropical**



**8.- Transporte de la muestra con pipetas Pasteur descartables a los tubos de ensayo**





**9.- Centrífuga Labofuge 200**

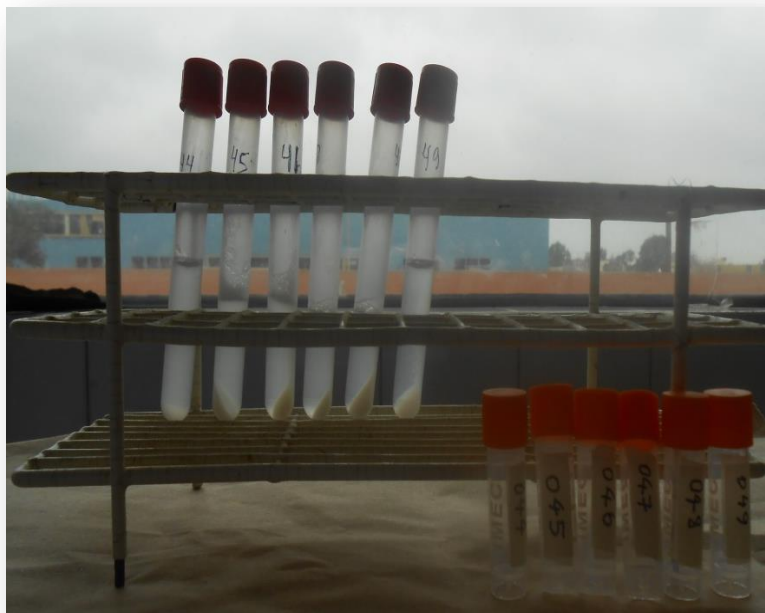


**10.- Centrifugado de las muestras a 6000 rpm durante 10 minutos**



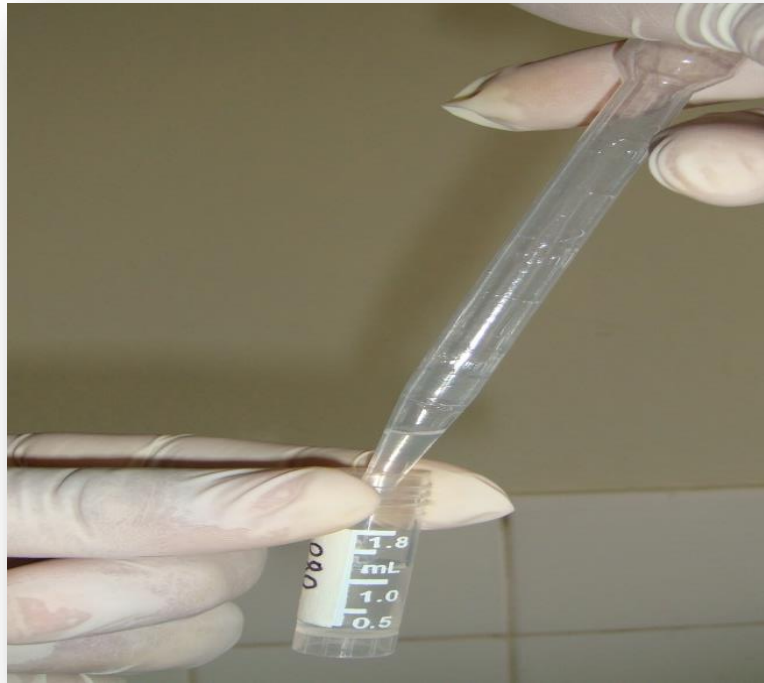


### 11.- Sobrenadante y sedimento

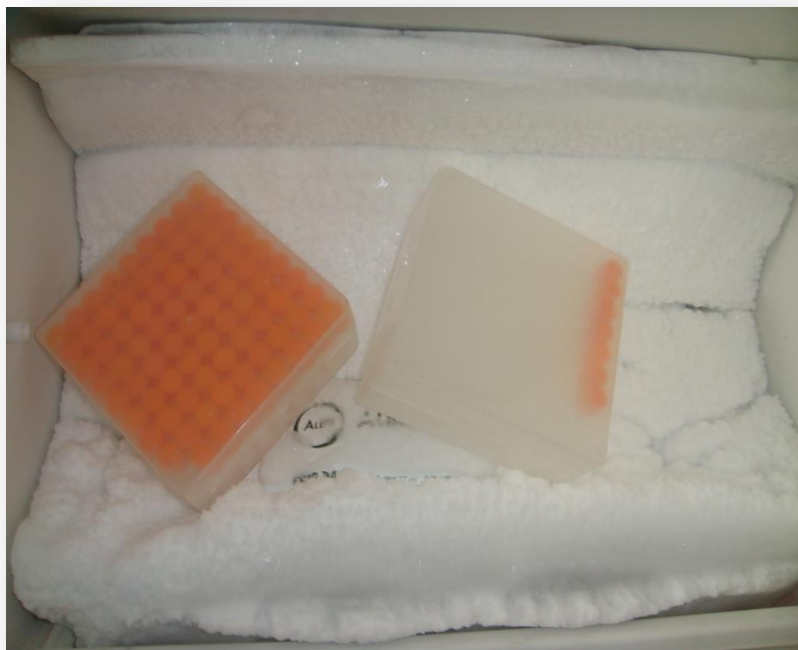


---

**12.- Extracción del sobrenadante y transporte a los criotubos para su almacenamiento**



**13.- Almacenamiento de la muestra a -20°C durante la fase de recolección.**



---

#### 14.- Assay Max Human Epidermal Growth Factor ELISAKit EE2011-1



15.- Se añadió 50 ul de solución estándar por pocillo.



---

**16.- Se incubó durante 2 horas**



**17.- Se lavó con la solución de lavado, utilizando una pipeta multicanalada.**



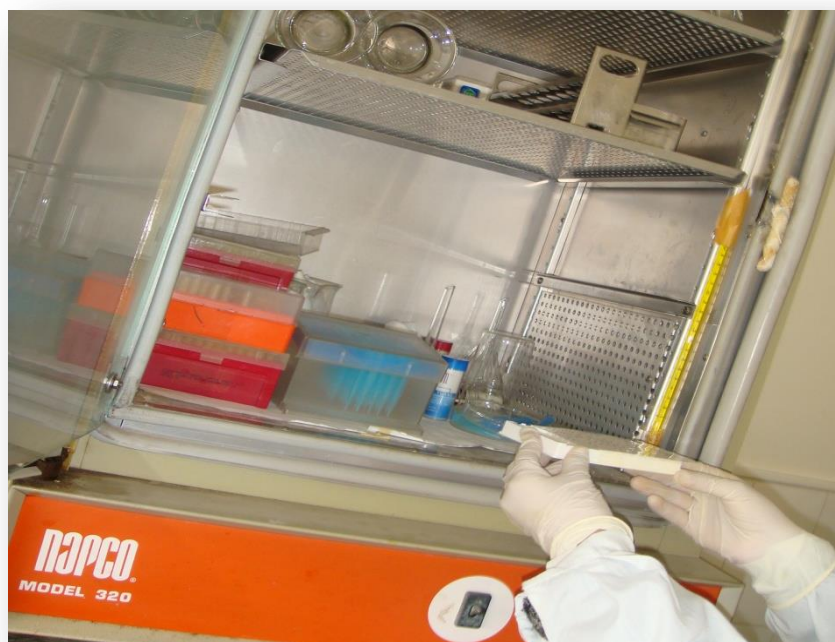


---

**18.-Secado, se elimina los restos golpeando contra papel toalla y se repite 5 veces.**



**19.- Nuevamente se incubó durante 30 minutos.**

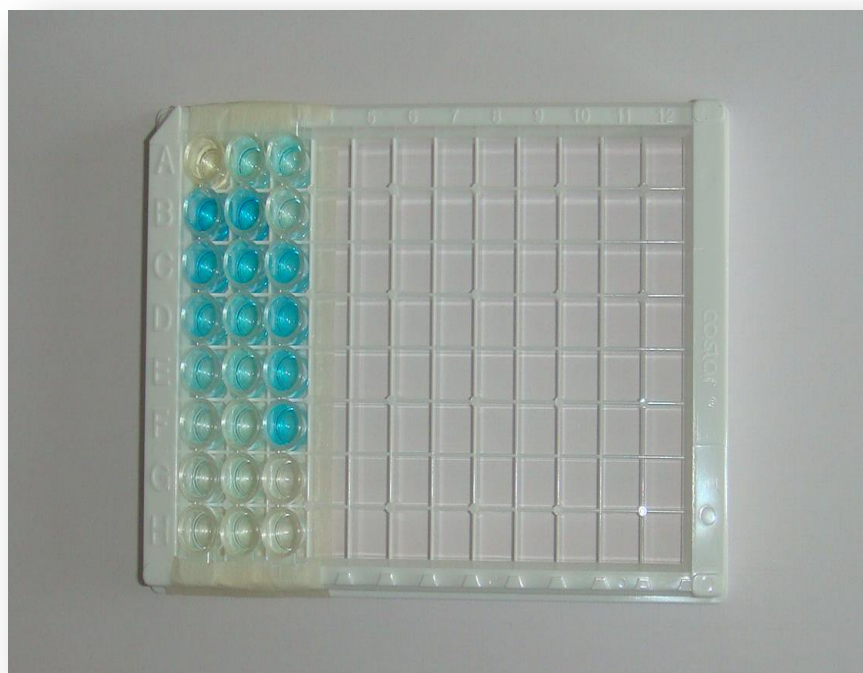


---

**20.- Se añadió 50ul del sustrato cromógeno por pocillo.**



**21.- Se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente y empieza la reacción, nótese el cambio de color.**



**22.- Se detuvo la reacción, aplicando la solución de parada.**



---

**23.- Una vez calibrada la solución estándar se repite el Procedimiento para las muestras restantes.**



**24.- Aplicación de la solución de parada.**





**25.- Nótese el cambio de coloración que indica la detención de la reacción.**



**26.-Espectrofotómetro Biotek**



**27.-Se realizó la lectura a 450nm de absorvancia**



---

## Servicio de Diagnóstico Facultad de Odontología de UNMSM

